UNIVERSITY OF HAWAII

EXPERIENTIA

EST EXPERIENTIA SCIENTIA PARACELSUS

REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:
R. MATTHEY · A. v. MURALT · L. RUZICKA · J. WEIGLE
Lausanne · Bern · Zürich · Genève-Pasadena

Redactor: H. MISLIN, Basel

VERLAG BIRKHÄUSER AG. · BASEL 10
SUISSE — SCHWEIZ — SVIZZERA — SWITZERLAND

Vol. VIII. – Fasc. 2 | 15. II. 1952 | Fr. 3.–

SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

J. ROCHE: Biochimie comparée des scléroprotéines iodées des Anthozoaires et des Spongiaires 45

Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief Reports

W. NOWACKI und K. MAGET: Zur Kristallographie von Cu(OH)Cl 55
K. SIMON: Zum Säurebindungsvermögen der Serumproteine 55
G. J. SCHURINGA, L. ALGERA, J. ISINGS und A. J. ULTÉE jr.: Einige Bemerkungen über die Epikutikula der Wolle . 57
W. BERNHARD, F. HAGUENAU et CH. OBERLING: L'ultra-structure du nucléole de quelques cellules animales, révélée par le microscope électronique 58
A. BAIRATI und F. E. LEHMANN: Über die submikroskopische Struktur der Kernmembran bei *Amoeba proteus* . . 60
U. RAHM: Über den Bau und Funktion der Prothoraxdrüse von *Sialis lutaria* L. (Megaloptera) 62
W. v. BUDDENBROCK und I. MOLLER-RACKE: Neue Beobachtungen über den Farbensinn der Insekten 62
J. M. DENUCÉ: Recherches sur le système phosphatasique des glandes séricigènes chez le ver à soie (*Bombyx mori* L.) 64
P. SUOMALAINEN and EILA LEHTO: Prolongation of Clotting Time in Hibernation 65
R. GASSER: Über zwei neue Akarizide aus der Gruppe der Di-(*p*-chlorphenyl)-karbinole 65
H. J. BEIN: Vergleichende Untersuchungen von ganglionärblockierenden Substanzen, von Sympathikolytika und von Parasympathikolytika bei experimenteller Lungenembolie 67
E. BONETTI, M. ALOISI e P. MERUCCI: Modificazioni nelle proteine muscolari contrattili del coniglio in corso di avitaminosi E 69
W. MINDER und T. GORDONOFF: Über Stoffwechselversuche mit radioaktivem Calcium 71
P. V. VÉGHELYI, T. T. KEMÉNY, J. SÓS, MAGDA B. HÄNDEL, L. CSALAY, and GABRIELLE HORVÁTH: Response of the Pancreas to Chronic Injury 72
H. J. BEIN, J. TRIPOD und R. MEIER: Zur Kreislaufwirkung des 1-Hydrazinophthalazins 74
F. GROSS und E. TSCHOPP: Über einen neuen, langwirkenden Ester des Desoxycorticosterons 75
S. PATAI: Manometric Measurement of Gas Evolution in High Temperature Reactions (Pro Laboratorio) 76
H. U. ZOLLINGER: Zur Technik der intravitalen Phasenmikroskopie (Pro Experimentis) 78

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Funktionentheorie, Bd. I und II. Von Constantin Carathéodory (Verlag Birkhäuser AG., Basel 1950) (Ref. A. Dinghas) 79
Urgeschichte der Schweiz, Bd. I. Von Otto Tschumi (Verlag Huber & Co., Frauenfeld 1949) (Ref. W. Küenzi) . . . 80

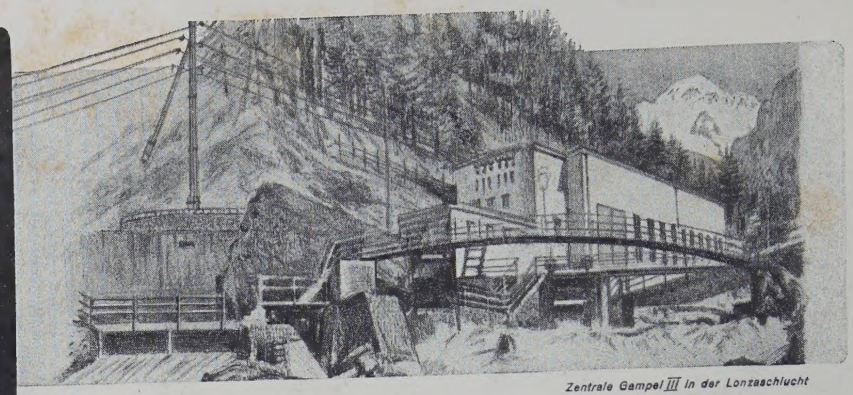
Informations - Informationen - Informazioni - Notes

Studiorum progressus: M. LÜSCHER: Die Ursachen der tierischen Regeneration 80
Congressus 84

LONZA

ELEKTRIZITÄTSWERKE
UND
CHEMISCHE FABRIKEN A.G.
BASEL

Karbidofen (Elektrodenteil) im Werk Visp (Wallis)



Zentrale Gampel III in der Lonzaschlucht

Calcium-Carbid für Beleuchtungs-, Heiz- und Schweißzwecke

Metallegierungen: Ferrosilicium, Reinsilicium, Silico-Aluminium, Silico-Aluminium-Mangan — Graphit

Künstliche Schleifmittel: Siliciumcarbid, Lonsicar (Siliciumcarbid) für Hartbeton

Stickstoff-Dünger: Kalksalpeter, Ammonsalpeter, Ammonsulfat Kalkstickstoff

Komplex-Dünger: Nitrophosphat, Nitrophosphatkali, Volldünger, Composto Lonza

Chemische Produkte: Formaldehyd, Acetaldehyd, Crotonaldehyd, Paraldehyd, Essigsäure, Essigsäureanhydrid, Natriumacetat, Dicyandiamid, Ammoniak, Salpetersäure, Nitriersäure, Natriumnitrit, Natriumnitrat, Harnstoff, Ammonnitrat, Nitrobenzol, Anilinöl

Organische Lösungsmittel: Aceton, Äthylacetat, Methyl- und Butylalkohol und deren Acetate, Spezialösungsmittel

Cellulose-Acetat

Vinylharze: Polyvinylchlorid, Polyvinylacetat, Polyvinylalkohol, Mischpolymerisate

Verzeichnis der Inserenten – Liste des annonceurs – List of Advertisers – Experientia VIII/2

Lonza AG., Basel
Trüb, Täuber & Co. AG., Zürich
Karl Kirchner AG., Bern
E. I. du Pont de Nemours and Co. Inc., Wilmington, Delaware U.S.A.
Ganz & Co., Zürich
Schwitter AG., Basel
Sandoz AG., Basel
Ciba AG., Basel
Verlag Birkhäuser AG., Basel

Die EXPERIENTIA kann in folgenden Ländern bei der Post abonniert werden:
EXPERIENTIA can be subscribed directly through any Post Office in the following countries:

Belgien-Luxemburg	Dänemark	Schweden	Portugal	Italien
Holland	Norwegen	Finnland	Marokko	Deutschland

L'EXPERIENTIA paraît le 15 de chaque mois. Vente et abonnement dans toutes les librairies suisses et étrangères, ou directement chez l'éditeur. Prix du numéro fr. 3.–; abonnement pour un an fr. 28.– pour la Suisse; pour l'étranger fr. 34.–. Ces prix s'entendent en francs suisses.

Die EXPERIENTIA erscheint am 15. jedes Monats und kann im In- und Ausland durch jede Buchhandlung oder direkt vom Verlag bezogen werden. Der Abonnementspreis beträgt in der Schweiz Fr. 28.–, im Ausland sFr. 34.–; die Einzelnummer kostet Fr. 3.–.

Insertionspreise: $^1/_1$ Seite Fr. 220.–, $^1/_2$ Seite Fr. 132.–, $^1/_4$ Seite Fr. 77.–. Inseratenannahme durch den Verlag.

EXPERIENTIA esce al 15 di ogni mese e può esser richiesta ad ogni libreria svizzera o estera, o anche direttamente alla casa editrice. Il prezzo del singolo fascicolo è di fr. 3.–. L'abbonamento annuo è di fr. 28.– per la Svizzera; all'estero fr. 34.–. I prezzi vanno intesi in valuta svizzera.

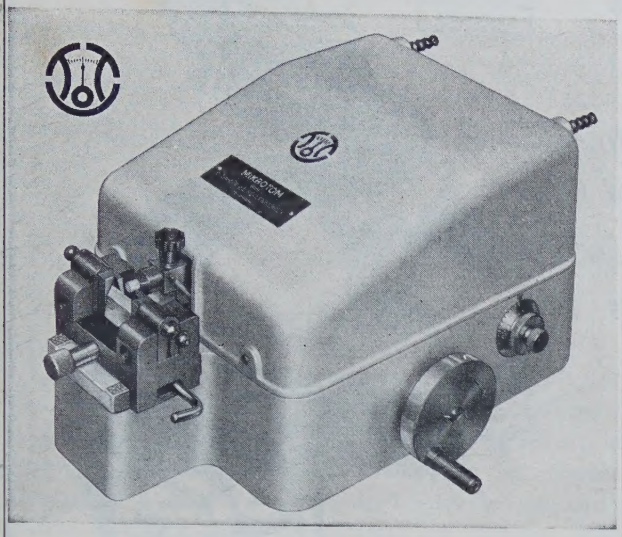
EXPERIENTIA is published on the 15th of every month and can be obtained in any country through the booksellers or from the publishers. The price per number is fr. 3.–, by annual subscription by inland-mail fr. 28.–; other countries fr. 34.–. Prices in Swiss currency.

Prices for advertising: $^1/_1$ page fr. 220.–, $^1/_2$ page fr. 132.–, $^1/_4$ page fr. 77.–. Advertisements should be sent to the publishers.

Copyright 1952 by Verlag Birkhäuser AG., Basel 10 (Schweiz), Elisabethenstraße 15, Tel. 49800; Telegrammadresse: Edita Basel

Printed in Switzerland by E. Birkhäuser & Cie. AG., Basel

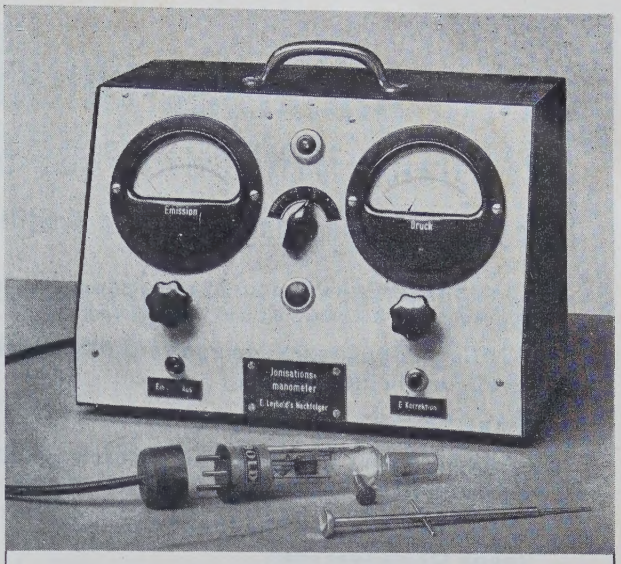
Das neue Mikrotom
für die Elektronenmikroskopie



Es erzeugt erstmals regelmäßige Schnittbänder von 0,05 - 1 μ
und ist unempfindlich gegen Erschütterungen

Trüb, Täuber & Co. AG., Zürich

Fabrik elektr. Meßinstrumente und wissenschaftlicher Apparate



Hochvakuum-Jonisationsmanometer

mit **direkter Druckablesung** und **automatischer**
Emissionsstabilisierung. Meßbereich: 10^{-3}–10^{-7} mm Hg
Automatische Abschaltung bei Lufteinbruch
Meßröhre mit auswechselbarer Wolframkathode

Verlangen Sie Offerte!

KARL KIRCHNER AG. BERN
Freiestraße 12, Tel. (031) 2 45 97

E. I. du Pont de Nemours and Co., Inc.

Chemical Manufacturers of Wilmington, Delaware, U.S.A., require the following for permanent research and development positions in the U.S.A.: —

Pharmacologist

Training should include basic knowledge of chemistry, including organic and biochemistry. Training and interest in Pharmacology should include knowledge of the metabolism of drugs, the relation of chemical structure to biological activity, and a detailed knowledge of all standard techniques used in Toxicology and Pharmacology.

Pathologist

Training should include basic knowledge of chemistry, including organic and biochemistry. Broad training is required in Pathology, Histology, and Hematology. A working knowledge of Physiology, Bacteriology, and Pharmacology would be desirable.

Biochemist

Thorough training in organic chemistry is important, and a minor or its equivalent in Bacteriology or Physiology, or both, is desirable. Specific interests should include animal nutrition or natural product isolation work.

Bacteriologist

Training should include a working knowledge of organic and biochemistry. The most important requirement is a detailed knowledge of the techniques of handling bacterial or virus diseases in laboratory animals and the chemotherapy of these infections. A thorough understanding of microbial physiology and biochemistry is also needed.

Organic Chemists

Several thoroughly trained organic chemists are needed whose interests lie in the field of chemical synthesis of biologically active compounds. Basic training in biochemistry and in a biological subject, such as Bacteriology, Physiology, or Pharmacology, is desired.

Chemical Engineers

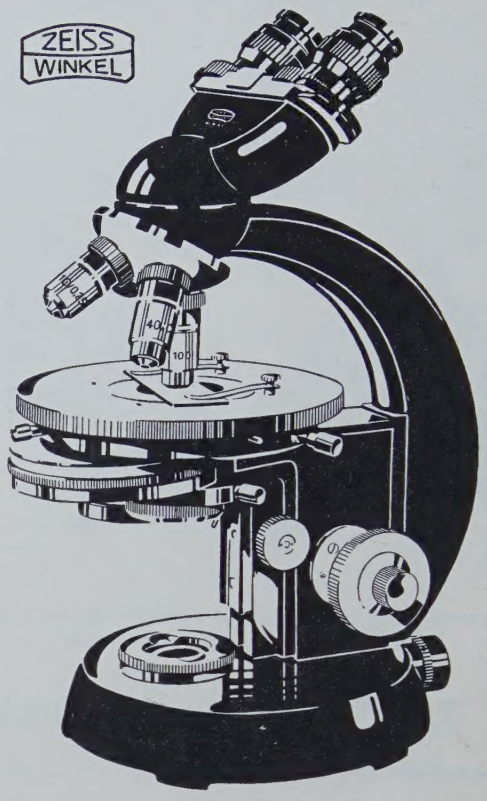
Several, for semi-works scale process development studies.

Applicants should have a Doctor's degree or equivalent research experience. Applicants should be under 35 years of age and eligible to emigrate to U.S.A. Salaries commensurate with age and experience and according to present U.S.A. scales. Apply in writing, giving full particulars, to E. I. du Pont de Nemours and Co., Bush House, Aldwych, London, W. C. 2.

NEUES **ZEISS**-WINKEL
STANDARD-MIKROSKOP GF 524

Das Ergebnis einer hundertjährigen Tradition !

- **Lichtstarke Einbaubeleuchtung** (Köhlersches Prinzip) für subjektive Beobachtung und Mikrophotographie
- **Tiefliegende, koaxial gelagerte Triebknöpfe für Grob- und Feineinstellung**
- **Neuartiger Gleittisch (Fettfriktion)**
- **Vollkommener Präparatschutz durch gefederte Fassung der Objektive**
- **Vergrößerungswechsler für die Okulare (ohne Okularwechsel)**
- **Vereinigter Hellfeld-Phasenkontrast-Dunkelfeld-Kondensor**
- **Neue Achromate und Neofluare**



Auskunft und Vorführung durch die Generalvertretung für die Schweiz:

GANZ & Co
BAHNHOFSTR. 40
TEL. (051) 23 97 73
Zürich

Clichés
in jeder Technik

SCHWITTER A-G

Basel / Zürich

EXPERIENTIA

Vol. VIII - Fasc. 2 Pag. 45–84 15. II. 1952

Biochimie comparée des scléroprotéines iodées des Anthozoaires et des Spongiaires

Par JEAN ROCHE[1], Paris

I. *Introduction générale*

La biochimie de l'iode a depuis plus de cinquante ans été orientée vers l'étude des protéines et de l'hormone du corps thyroïde des Mammifères, en raison de la teneur relativement élevée en iode de cet organe (BAUMANN[2]). Elle n'a fait l'objet chez les animaux marins que d'un nombre restreint de travaux, dont ceux consacrés aux scléroprotéines des Anthozoaires et des Spongiaires ont posé des problèmes particuliers, qu'il convient de situer dans le cadre général de l'étude des iodoprotéines naturelles.

L'eau de mer renferme de 0,01 à 0,04 mg d'iode par litre[3]. Chez les Poissons, le corps thyroïde seul est beaucoup plus riche en cet élément que tous les autres tissus en raison de son activité endocrinienne. Les invertébrés étant dépourvus de cet organe, l'accumulation d'iode – et à un degré beaucoup moindre de brome – dans certains de leurs tissus ne saurait relever du même déterminisme. Chez ces animaux «la possibilité d'une synthèse d'hormone thyroïdienne demeure une question sans réponse» (GOLDSMITH[4]). Elle mérite néanmoins d'être envisagée dans des tissus métaboliquement actifs susceptibles de concentrer l'iode, comme le septum stolonique d'Ascidies des genres *Ciona* et *Styla* (GORBMAN[5]), mais non dans le cas d'organes métaboliquement inertes. Or, l'axe corné des Anthozoaires et le squelette corné des Spongiaires renferment des scléroprotéines d'une teneur en iode parfois très élevée, pouvant atteindre environ 10 % I. L'existence de ces scléroprotéines paraît indépendante de tout processus endocrinien, et il est très peu probable que l'on puisse la considérer, avec GUDERNATSCH[6], comme un indice de la «continuité phylogénétique du complexe thyroïdien à partir des invertébrés». Aussi les résultats de l'étude de ces protéines seront-ils exposés sur un tout autre plan, et nous ne retiendrons de leurs relations éventuelles avec les thyroglobulines, substances mères de la thyroxine, que les faits permettant de discuter le mécanisme de formation de leurs constituants iodés.

[1] Collège de France, Paris.

[2] E. BAUMANN, Z. physiol. Chem. *21*, 481 (1896).

[3] K. CLOSS, *Über das Vorkommen des Jods im Meer und in Meeresorganismen*, 1 vol. (M. Johansen, Oslo 1931), 150 p.

[4] E. GOLDSMITH, Ann. N. Y. Acad. Sci. *50*, 283 (1949).

[5] A. GORBMAN, Science *94*, 192 (1941).

[6] F. GUDERNATSCH, Ann. N. Y. Acad. Sci. *50*, 313 (1949).

II. *Répartition des scléroprotéines halogénées des Anthozoaires et des Spongiaires; nature de leurs acides aminés iodés et bromés*

De très anciennes observations ont établi que les Eponges cornées (FYFFE[1]) et les Gorgones (BALARD[2]) renferment de l'iode, les cendres des premières étant utilisées depuis des temps reculés par les médecins chinois comme agents thérapeutiques de certains goitres. Des recherches ultérieures ont montré que l'iode y est souvent associé à de petites quantités de brome et à des traces de chlore dans des scléroprotéines, les gorgonines et les spongines, constituant le résidu d'extraction par l'eau et les solvants organiques du squelette corné décalcifié d'Anthozoaires et de Spongiaires.

A. *Gorgonines.* – Après l'établissement de données d'orientation sur la teneur en iode des gorgonines[3], une première étude systématique des scléroprotéines de 39 espèces de Gorgonaires appartenant aux familles des Gorgonidés, des Gorgonellidés, des Isidés, des Muricéidés, des Plexauridés et des Primnoïdés a été entreprise par VON MÖRNER[4].

La teneur en iode des gorgonines présente une extrême variabilité d'un genre – ou même d'une espèce – à l'autre (de 6,9% chez *Eunicella verrucosa* Pallas à 0,03% chez *Lophogorgia palma* Pallas). La plupart d'entre elles renferment de 1,5 à 0,2% d'iode, en sorte que les cas d'*Eunicella verrucosa* Pallas (6,9% I) et de *Gorgonia graminea* Lamarck (5,6% I) apparaissent comme exceptionnels. Un petit nombre d'Antipathaires renferme également de l'iode. Le dosage du brome et du chlore dans 32 gorgonines a, par ailleurs, révélé la présence constante de ces halogènes à des taux variant de 4,2 à 0,2% Br et 0,4 à 0,04% Cl. La teneur

[1] A. FYFFE, Edinbg. Phil. J. *1*, 254 (1819).

[2] J. BALARD, Ann. Chim. Phys. *28*, 178 (1825).

[3] J. BALARD, Ann. Chim. Phys. *28*, 178 (1825) – E. S. SARPHATI, *Commentatio de iodo* (Lugdumi Batavorum, 1835), cité d'après CLOSS, l. c. – J. SCHLOSSBERGER, Ann. Chem. *48*, 49 (1843). – L. B. MENDEL, Amer. J. Physiol. *14*, 243 (1901). – F. COOK, Amer. J. Physiol. *12*, 95 (1905).

[4] C. T. VON MÖRNER, Z. physiol. Chem. *51*, 33 (1907); *55*, 77 (1908).

en brome est en général inférieure à 1,0%, sauf dans deux espèces de Primnoïdés très pauvres en iode (4,2% Br chez *Primnoa lepidifera*) et celle en chlore dépasse rarement 0,2% Cl. Ces données ont été confirmées par l'étude de 30 gorgonines dans mon laboratoire; mais les conclusions d'ordre biologique de VON MÖRNER ont dû être remaniées à partir des résultats de nos recherches.

Pour cet auteur, la teneur en iode des gorgonines serait caractéristique des diverses espèces animales et il se manifesterait, par ailleurs, une relation entre les taux de l'iode et du brome dans ces protéines, dont seules celles très pauvres en l'un renfermeraient l'autre en abondance. La première de ces propositions ne peut pas être retenue et la portée de la seconde paraît limitée aux espèces de Primnoïdés étudiées par l'auteur. En effet, les parties les plus anciennes de l'axe corné renferment toujours de l'iode à un taux beaucoup moindre que les parties néoformées (extrémités des rameaux). Des données déterminées sur les protéines de quatre *Eunicella verrucosa* Pallas d'origines diverses (Banyuls, Marseille, Mauritanie, Tunisie) sont à cet égard caractéristiques (5,14 et 4,0% I; 9,01 et 4,46% I; 9,30 et 4,08% I; 6,78 et 3,29% I). De plus, les gorgonines provenant de divers individus d'une même espèce sont inégalement iodées[1]. Par ailleurs, les teneurs en brome les plus élevées enregistrées par nous l'ont été sur des gorgonines renfermant de l'iode à des taux très divers et parfois très riches en celui-ci (2,20% Br et 9,01% I chez *Eunicella verrucosa* Pallas; 2,20% Br et 1,82% I chez *Scirpearia flagellum* (Johnson). L'interprétation des résultats obtenus pose donc des problèmes différents de ceux envisagés par VON MÖRNER. Il existe bien une inégalité dans le degré d'halogénation des gorgonines de diverses espèces, mais celui-ci présente des écarts sur lesquels la biochimie comparée ne peut pas espérer établir une coordination entre la composition des scléroprotéines des Anthozoaires et la classification de ceux-ci. En revanche, le déterminisme des différences observées a paru mériter d'être étudié en ce qui concerne le mécanisme de l'halogénation de ces protéines et ses relations avec leur composition en acides aminés. L'étude de celles-ci était en outre susceptible de permettre la caractérisation biochimique des espèces que les recherches antérieures n'avaient pas réalisée.

B. *Spongines.* – La présence d'iode dans le squelette corné des Cératospongiaires a été signalée par de nombreux auteurs[2], avant que la spongine en ait été préparée par simple décalcification et extraction à l'eau et à des solvants organiques du tissu de soutien des éponges. La protéine d'*Euspongia officinalis* renferme en général moins de 1% I et de 1% Br[1]. Un problème particulier a paru se poser pour celle d'éponges vivant dans les mers chaudes. Pour HUNDESHAGEN[2], le squelette corné d'espèces récoltées aux Antilles, aux Bermudes (*Luffaria cauliformis* Carter, *Aplysina compressa* Lamarck, *Verungia plicifera*) renfermerait de 8 à 14% I et de 1 à 2% Br et il existerait une relation directe entre le degré d'halogénation des spongines et la localisation des éponges dans des mers tropicales. Cette notion, reproduite dans de nombreux traités, ne semble pas devoir être retenue, à la suite d'observations faites par ACKERMANN et BURCHARD[3], par LOW[4] et dans mon laboratoire.

Des spongines de nombreuses espèces des mers chaudes, dont douze en provenance des Bermudes et préparées à partir d'animaux fraîchement pêchés, renferment, pour la plupart moins de 1,0% I et Br et certaines moins de 0,1% I. La teneur la plus élevée enregistrée, l'a été sur la protéine d'*Aplysina crassa* Hyatt (2,35% I). Dans les cinquante deux espèces étudiées par LOW[4] et provenant pour la plupart des Bermudes, de Floride, quarante neuf renfermaient moins de 0,5% I et 0,5% Br. L'échantillon le plus riche en halogène contenait 1,21% I et 2,66% Br («éponge balnéaire» commerciale). Les résultats d'HUNDESHAGEN apparaissent donc comme aberrants. L'étude de la composition des spongines de certaines des espèces étudiées (voir tableau VIII) nous a par ailleurs montré que ces protéines ne renferment pas les acides aminés susceptibles de fixer des halogènes à des taux assez élevés pour que l'exactitude des données obtenues par cet auteur soit plausible. Enfin, si l'on trouve dans certaines espèces une spongine plus riche en iode et en brome que dans d'autres, on observe par ailleurs des variations intraspécifiques notables (par exemple de 0,15 à 0,57% I pour la protéine d'*Euspongia officinalis*). De ce fait, il y avait lieu d'étendre aux spongines l'étude envisagée pour les gorgonines et les antipathines, afin de rechercher si l'halogénation de ces diverses protéines est régie par des facteurs biochimiques et physiologiques identiques.

C. *Nature des constituants iodés et bromés des scléroprotéines d'Anthozoaires et de Spongiaires.* – Tous les constituants iodés et bromés naturels connus de ces protéines sont des acides aminés dérivant de la L-tyrosine (acide *p*-hydroxyphényl-α-aminopropionique). Leurs formules de constitution ont été rassemblées dans le tableau I.

[1] J. ROCHE et M. EYSSERIC-LAFON, recherches non publiées.

[2] A. FYFFE, Edinbg. Phil. J. *1*, 254 (1819). – E. S. SARPHATI, *Commentatio de iodo* (Lugdumi Batavorum. 1835), cité d'après CLOSS l.c. – J. H. CROOKEWIT, Ann. Chem. *48*, 43 (1843). – G. STAEDELER, Ann. Chem. *3*, 12 (1859). – E. HARNACK, Z. physiol. Chem. *24*, 43 (1896). – M. HENZE, Z. physiol. Chem. *38*, 60 (1903).

[1] K. CLOSS, *Über das Vorkommen des Jods in Meer und in Meeresorganismen*, 1 vol. (M. Johansen, Oslo 1931), 150 p. – E. HARNACK, Z. physiol. Chem. *24*, 43 (1896). – M. HENZE, Z. physiol. Chem. *38*, 60 (1903). – M. T. CAMMERON, J. biol. Chem. *2*, 335 (1914). – B. BLEYER, Biochem. Z. *170*, 265 (1926). – T. VON FELLENBERG Ergebn. Physiol. *25*, 176 (1926). – V. J. CLANCEY, Biochem. J. *20*, 1186 (1926). – K. SUGIMOTO, J. biol. Chem. *76*, 723 (1928).

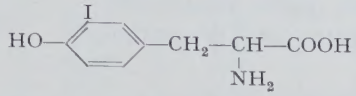
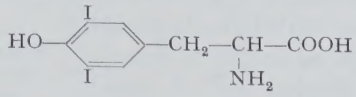
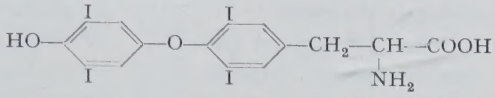
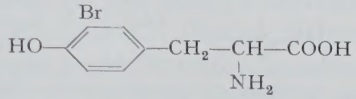
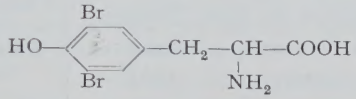
[2] F. HUNDESHAGEN, Z. angew. Chem. *8*, 473 (1895).

[3] D. ACKERMANN et C. BURCHARD, Z. physiol. Chem. *271*, 183 (1941).

[4] E. MACLOW, Sears Found. J. Mar. Res. *8*, 97 (1949).

Tableau I

Acides aminés iodés et bromés présents dans diverses scléroprotéines d'Anthozoaires et de Spongiaires

Nom	Formule de constitution	Protéines[1]
Monoïodotyrosine		Antipathines[2] Gorgonines[3] Spongines[2]
Diiodotyrosine		Antipathines[2] Gorgonines[4] Spongines[5]
Thyroxine		Gorgonines[6]
Monobromotyrosine		Gorgonines[7]
Dibromotyrosine		Gorgonines[8] Spongines[9]

Les iodotyrosines ont été caractérisées dans les trois types de scléroprotéines où elles existent à des taux divers souvent avec forte prédominance de la 3,5-diiodotyrosine. Aussi ce dérivé a-t-il été isolé le premier d'une gorgonine, par Drechsel[10], ce qui lui a valu pendant longtemps le nom d'acide iodogorgonique. Sa présence a été mise en évidence dans les spongines, après de laborieuses recherches sur sa structure[11]. La monoiodotyrosine (probablement halogénée en position 3) a été caractérisée par chromatographie sur papier[12]; de même la thyroxine[13], laquelle n'est présente qu'à l'état de traces et dans les produits les plus riches en iode. La 3,5-dibromotyrosine, isolée des gorgonines[1], puis des spongines[2], y est accompagnée de petites quantités de monobromotyrosine (probablement halogénée en position 3).

Pour un certain nombre d'espèces le bilan des acides aminés iodés dérivés de la tyrosine rend, à de faibles écarts près, compte de la totalité de l'iode présent; il est néanmoins possible qu'il n'en soit pas ainsi pour toutes. La présence de traces de monoiodohistidine dans la thyroglobuline suggère l'hypothèse que cet acide aminé doit pouvoir être aussi retrouvé dans les scléroprotéines d'invertébrés très riches en histidine, mais il est certain que l'halogénation de la tyrosine explique dans sa quasi-totalité la fixation de l'iode et du brome par la plupart de ces protéines.

La présence d'un tel mélange d'acides aminés dans les scléroprotéines halogénées des Anthozoaires et des Spongiaires est une preuve indirecte du fait que la teneur en iode et en brome de celles-ci est liée au mécanisme de leur halogénation. Il convient d'étudier ce processus dans le cadre général de la biochimie des protéines halogénées.

III. *Mécanisme biochimique de l'halogénation des scléroprotéines des Anthozoaires et des Spongiaires*

Les seules protéines renfermant de l'iode dans la nature, en dehors de celles que nous étudions, sont les thyroglobulines et il a par ailleurs été possible d'en halogéner artificiellement d'autres, en particulier la

[1] Les indications figurant dans cette colonne sont celles des scléroprotéines dans lesquelles chacun des acides aminés iodés ou bromés a été identifié; elles n'impliquent pas qu'ils sont absents des autres.

[2] J. Roche et M. Eysseric-Lafon, recherches non publiées.

[3] C. Fromageot et M. Justitz, M. Lafon et J. Roche, C. r. Soc. Biol. *142*, 785 (1948). – J. Roche, R. Michel, S. Lissitzky et Y. Yagi, Bull. Soc. Chim. biol. *33*, 526 (1951).

[4] E. Drechsel, Z. Biol. *33*, 85, 90 (1896).

[5] A. Oswald, Z. physiol. Chem. *75*, 353 (1911). – D. Ackermann et E. Müller, Z. physiol. Chem. *269*, 148 (1941).

[6] J. Roche et M. Lafon, Bull. Soc. Chim. biol. *31*, 147 (1949). – J. Roche, R. Michel, S. Lissitzky et Y. Yagi, C. r. Acad. Sci. *23* (1951) et Bull. Soc. Chim. biol. *33*, 526 (1951).

[7] C. Fromageot et M. Justitz, M. Lafon et J. Roche, C. r. Soc. Biol. *142*, 785 (1948).

[8] C. T. von Mörner, Z. physiol. Chem. *88*, 138 (1913).

[9] D. Ackermann et C. Burchard, Z. physiol. Chem. *271*, 183 (1941).

[10] E. Drechsel, Z. Biol. *33*, 85, 90 (1896).

[11] E. Drechsel, Z. Biol. *33*, 85, 90 (1896). – M. Henze, Z. physiol. Chem. *38*, 60 (1903). – H. L. Wheeler et L. B. Mendel, J. biol. Chem. *7*, 1 (1909).

[12] C. Fromageot et M. Justitz, M. Lafon et J. Roche, C. r. Soc. Biol. *142*, 785 (1948). – J. Roche, R. Michel, S. Lissitzky et Y. Yagi, C. r. Acad. Sci. *232*, 570 (1951).

[13] J. Roche, R. Michel, S. Lissitzky et Y. Yagi, Bull. Soc. Chim. biol. *33*, 526 (1951).

[1] C. T. von Mörner, Z. physiol. Chem. *88*, 138 (1913).

[2] D. Ackermann et C. Burchard, Z. physiol. Chem. *271*, 183 (1941).

caséine, l'insuline, la pepsine, la sérumalbumine, la zéine. Les réactions de substitution évoluant au sein d'une molécule protéique traitée par l'iode sont identiques à celles que l'utilisation des isotopes radioactifs de celui-ci ont permis de suivre dans le corps thyroïde. Aussi doit-on se demander dans quelle mesure elles interviennent au niveau du squelette corné des Anthozoaires et des Spongiaires[1].

L'hormone thyroïdienne des vertébrés, la thyroxine, prend naissance dans les cellules épithéliales bordant les vésicules colloïdes de la glande au sein de la thyroglobuline. La synthèse de cette protéine précède alors son halogénation. Le premier temps du cycle de l'iode dans le corps thyroïde est la concentration des ions I circulant dans le plasma; son mécanisme demeure à éclaircir. Il est suivi de l'oxydation de ces ions, probablement par la cytochromeoxydase, laquelle libère de l'iode, I_2, par la réaction $2\,I = I_2 + 2\,e$. A partir de ce stade, un processus identique se déroule dans la thyroglobuline et dans les protéines les plus diverses mises *in vitro*, en présence d'iode. Il évolue nécessairement de même dans les scléroprotéines des Anthozoaires et des Spongiaires, selon les modalités qui lui sont imposées par la composition[2] et par la structure fibreuse[3] de celles-ci.

Les thyroglobulines renferment la quasi-totalité de leur iode à l'état d'iodotyrosine et de thyroxine. Il en est de même des protéines artificiellement iodées à ceci près que l'on y rencontre en outre des quantités notables d'iodohistidines (2-iodo- et 2,5-iodohistidine) lorsqu'elles ont été traitées par un fort excès de réactif. L'ioduration biologique des premières porte à peu près exclusivement sur la tyrosine[4] et celle des secondes est régie par leur teneur en cet acide aminé. Elle conduit dans les deux cas à la formation successive de monoïodotyrosine, de diiodotyrosine, puis de thyroxine, comme l'ont montré de nombreux travaux, entre autres ceux de Kendall, d'Harington, de Ludwig et von Mutzenbecher, de Chaikoff, Taurog et Morton, de Roche, Michel et Lafon. Ceci étant, il convenait de rechercher si, et dans quelle mesure, la teneur en tyrosine de scléroprotéines des Anthozoaires et des Spongiaires constitue le facteur limitant du taux de leur halogénation.

Des dosages d'iode et de brome, de tyrosine, de mono- et diiodotyrosine et de thyroxine ont été réalisés dans ce but sur trente gorgonines et quatorze spongines et des exemples caractéristiques des résultats obtenus[1] ont été rassemblés dans les tableaux II et III. Le premier de ceux-ci comprend des teneurs en halogènes, en tyrosine non halogénée et en tyrosine totale de gorgonines d'origines diverses, la dernière de ces données étant calculée à partir de la somme: tyrosine non halogénée + tyrosine présente à l'état de dérivés mono- et diiodé et dibromé + tyrosine transformée en thyroxine. Les résultats de ce calcul ne peuvent pas être très rigoureux en raison de l'imprécision de certains de ses éléments (entre autres du taux de dibromotyrosine calculé à partir de la teneur en brome); l'ordre de grandeur de ses résultats est néanmoins correct. Nous n'avons fait figurer dans le tableau III qu'un nombre restreint de données relatives à des spongines, car toutes celles-ci ne renferment pas des quantités dosables de dérivés halogénés de la tyroxine. Six autres échantillons étudiés provenant d'*Aaphtos* sp., d'*Axinella radis*, de *Cinachysa cavernosa*, de *Lissodendoryx*

Tableau II

Teneurs en iode et en brome total, en tyrosine (non halogénée) et en tyrosine totale (halogénée et non halogénée) de gorgonines de diverses origines

Origine de la protéine	I%	Br%	Tyrosine non halogénée %	Tyrosine totale %
Gorgonellidés				
Ellisella elongata (Pallas)	1,80	2,15	3,20	7,23
Ellisella paraplexauroides Stiasny	1,61	1,85	3,00	8,18
Scirpearia flagellum Johnson	1,82	2,20	2,97	8,34
Gorgonidés				
Gorgonia adamsii (Verrill)	0,54	0,02	3,18	3,49
Leptogorgia Chevallieri Stiasny	0,15	0,02	0,96	0,98
Leptogorgia petechizans (Pallas)	0,60	0,02	2,48	2,74
Rhipidigorgia elegans (Linné)	0,08	0,04	1,71	1,75
Rhipidigorgia flabellum Linné	0,62	0,73	7,96	9,47
Plexauridés				
Eunicella ctenocelloides Verrill	8,90	1,59	4,58	14,66
Eunicella verrucosa Pallas (var. *stricta*)	6,78	1,70	4,88	13,24
Eunicella verrucosa Pallas (var. *typica*)	9,30	2,20	5,25	17,14
Euplexaura maghrebensis (Stiasny)	0,23	0,30	1,10	1,59
Euplexaura pseudo-büttikoferi Stiasny	0,49	0,10	2,73	2,81
Plexaura kükenthali Moser	2,54	0,30	5,50	8,60

[1] On trouvera un exposé d'ensemble sur les iodoprotéines, naturelles et artificielles, et sur la biosynthèse de la thyroxine dans: J. Roche et R. Michel, Adv. in Protein Chem. *6*, 523 (1951); nous nous bornerons ici à résumer les notions nécessaires à l'interprétation des faits observés dans l'étude des scléroprotéines halogénées des invertébrés.

[2] J. Roche et M. Eysseric-Lafon, recherches non publiées.

[3] H. Friedrich-Freska, O. Kratky et O. Sckora, Naturwiss. *32*, 78 (1944).

[4] De récentes recherches permettent de considérer que, dans les thyroglobulines, 2% environ de l'iode total sont compris dans la monoïodohistidine. (J. Roche, R. Michel et S. Lissitzky, recherches non publiées.)

[1] J. Roche et M. Eysseric-Lafon, recherches non publiées. – J. Roche et M. Lafon, Bull. Soc. Chim. biol. *31*, 147 (1949); C. r. Soc. Biol. *143*, 521 (1949).

Tableau III

Teneur en iode et en brome total, en tyrosine, en diiodotyrosine et en tyrosine totale de spongines de diverses origines

Espèce animale	Origine géographique	I%	Br %	Tyrosine non halogénée %	Diiodotyrosine % *	Tyrosine totale %
Aplysina crassa Hyatt	Madagascar	2,35	1,20	2,07	4,22	5,18
Aplysina fistularis Lamarck . .	Martinique	1,30	1,31	2,89	1,48	5,00
Aplysina holda Lind.	Mer Rouge	0,47	0,09	2,30	indos.	(2,74)
Callyspongia vaginalis	Bermudes	0,39	0,20	1,90	indos.	(2,40)
Euspongia officinalis	Provence	0,51	0,47	0,32	0,77	1,18
Haliclona viridis	Bermudes	0,14	traces	2,92	indos.	(3,07)
Hircinia variabilis	Bermudes	0,57	0,18	1,89	0,80	2,46
Iantella sp.	Bermudes	traces	0,30	4,76	indos.	(5,09)
Luffaria cauliformis	Antilles	0,47	—	2,10	indos.	(2,29)
Spongilla lacustris Esper. . . .	Seine (fl.)	0,20	traces	1,30	indos.	(1,41)
Stelospongia alicifera	Martinique	0,12	—	1,70	indos.	(1,75)
Syphonocalia pruvoti Topsent. .	Tunisie	0,20	traces	0,77	indos.	(1,41)
Uruguya coralloides	Orénoque (fl.)	0,50	—	2,89	indos.	(3,24)
Verungia fistularis	Bermudes	0,50	0,12	4,23	indos.	(4,84)

* Le terme «indosable» signifie inférieur à 5%. En raison de la pauvreté en iode des spongines, la monoïodotyrosine n'a pu être dosée en aucun cas et la diiodotyrosine que dans certains. Aussi, nous sommes nous bornés la plupart du temps (valeurs entre parenthèses dans la dernière colonne du tableau) à calculer la teneur en tyrosine totale, en admettant que la totalité du brome et de l'iode sont présents à l'état de dérivés dihalogénés de cet acide aminé. Les valeurs ainsi calculées sont sans doute entachées d'une légère erreur par défaut, due à la présence de dérivés monohalogénés.

isodictionis, de *Spheciospongia* sp. et *Tedania ignis*, ne renfermaient que des traces d'iode, bien que provenant de mers chaudes. L'origine des spongines a été mentionnée sur ce tableau pour des raisons exposées plus haut (voir page 46).

Une brève discussion de ces données permet d'interpréter leur signification. Les gorgonines de diverses origines renferment la tyrosine et ses dérivés à différents taux. La teneur en tyrosine totale de chacune des espèces étudiées présente une valeur particulière avec laquelle leur teneur en iode (et en halogène totaux) paraît être en relation. Seules les protéines très riches en tyrosine le sont aussi en iode et la pauvreté en l'une et en l'autre vont en général de pair. L'ioduration des gorgonines est donc probablement liée à la nature de la protéine sur laquelle elle s'opère. Son degré doit dès lors être limité par deux facteurs: la teneur en tyrosine des gorgonines et l'intensité du mécanisme physiologique qui réalise l'halogénation (concentration des iodures et processus enzymatiques d'oxydation). Ainsi s'explique que les gorgonines de certaines espèces assez riches en tyrosine, comme *Rhipidigorgia flabellum* Linné, demeurent pauvres en iode et que la relation entre les teneurs en halogènes et en tyrosine totale ne soit pas très rigoureuse d'un genre à l'autre. Cet état de choses empêche de considérer que, comme l'avait admis VON MÖRNER, la teneur en iode et en brome d'une gorgonine puisse permettre de la caractériser. La formation des bromotyrosines dans ces protéines obéit au même déterminisme que celle de leurs homologues iodés.

La thyroxine n'est présente qu'à l'état de traces, même dans les plus riches en iode de ces scléroprotéines, alors qu'elle est beaucoup plus abondante dans les thyroglobulines et dans de nombreuses iodoprotéines artificielles. Or, l'ioduration de la fibroïne de la soie[1] ne conduit, elle aussi, qu'à un rendement très faible en thyroxine (0,40% dans les produits renfermant 12,7% I), malgré une transformation complète de la tyrosine (12,0%) en dérivé dihalogéné. L'étude du rœntgenogramme de cette iodoprotéine[2] a montré que les restes de diiodotyrosine y sont répartis à des distances trop grandes pour qu'ils puissent réagir entre eux et se condenser en thyroxine. L'analogie de structure de ces deux protéines fibreuses[3] permet de penser que la pauvreté en thyroxine des gorgonines riches en iode relève de la même explication. De toute manière, cet acide aminé ne joue probablement dans les protéines des formations de soutien aucun rôle métabolique analogue à celui de l'hormone thyroïdienne des vertébrés. L'halogénation des gorgonines n'a probablement qu'un rôle statique, la variation du pK de la fonction phénolique de la tyrosine qu'elle provoque pouvant modifier la stabilité de certaines liaisons intramoléculaires.

Les résultats obtenus sur les spongines sont relativement plus homogènes; aucune de ces protéines n'est très riche en halogène ni en tyrosine. Ce fait permet de mettre en doute la validité des résultats et de l'opinion d'HUNDESHAGEN[4] selon lequel les éponges de mers chaudes (genres *Verungia et Aplysina* entre autres) renfermeraient beaucoup plus d'halogènes que celles des mers tempérées. Les spongines les plus riches en tyrosine que nous ayons examinées[5], celles d'*Aplysina*

[1] R. MICHEL et R. PITT-RIVERS, Biochim. biophys. acta *2*, 223 (1948).

[2] H. FRIEDRICH-FREKSA, O. KRATKY et O. SCKORA, Naturwiss. *32*, 78 (1944).

[3] G. CHAMPETIER et E. FAURÉ-FREMIET, C. r. Acad. Sci. *207*, 1153 (1938).

[4] F. HUNDESHAGEN, Z. angew. Chem. *8*, 473 (1895).

[5] J. ROCHE et M. EYSSERIC-LAFON, recherches non publiées.

Tableau IV

Teneurs en halogènes et en acides aminés de gorgonines provenant de divers genres de Plexauridés *(Eunicella, Euplexaura, Plexaura)*

Halogène et acide aminé	*Eunicella cténocelloides* Verrill	*Eunicella verrucosa* Pallas (var. *stricta*)	*Eunicella verrucosa* Pallas (var. *typica*)	*Euplexaura maghrebensis* Stiasny	*Euplexaura pseudo-bütikofferi* Stiasny	*Plexaura kükenthali* Moser
I%	8,90	6,78	9,30	0,23	0,49	2,45
Br%	1,59	1,70	2,20	0,30	0,10	0,30
Monoïodotyrosine	8,79	9,25	7,13	0	traces	2,35
Diiodotyrosine	9,54	5,09	12,65	traces	traces	3,23
Thyroxine	0,18	0,12	0,20	0	0	0
Tyrosine non halogénée	4,58	4,88	5,25	1,10	2,37	5,50
Tyrosine totale	14,66	13,24	17,14	1,59	2,81	8,60
Arginine	8,20	8,85	6,40	7,75	9,05	6,90
Histidine	2,70	2,23	2,80	1,50	2,00	0,86
Lysine	2,60	6,30	4,50	5,85	6,75	7,95
Glycocolle	15,05	18,80	16,70	13,80	15,03	12,57
Cystine	2,10	3,00	2,60	2,80	2,10	2,80
Méthionine	–	0,27	0,25	–	–	–
Sérine	2,90	2,20	1,61	5,60	2,43	3,50

Par ailleurs, les gorgonines des trois *Ellisella* étudiés ne renferment pas de tryptophane; cet acide aminé n'a pas été dosé dans les protéines des autres Plexauridés. La gorgonine d'*Eunicella verrucosa* Pallas (var. *typica*) renferme 0,7% de leucine et 2,10% de valine.

crassa Hyatt, de *Ianthella* sp., d'*Aplysina fistularia* Lamarck, de *Verungia fistularis* renferment respectivement 5,18, 5,09, 5,00 et 4,84% de tyrosine totale et leur saturation par l'iode à l'état de dérivé disubstitué entraînerait la présence de cet halogène aux taux respectifs de 3,04, 2,98, 2,93 et 2,84%. Il convient toutefois de remarquer que les spongines renfermant le plus de tyrosine (5,0% environ) proviennent toutes de mers chaudes, en sorte qu'il n'est pas impossible que certaines espèces tropicales soient à cet égard exceptionnelles. Tel est sans doute le cas de l'échantillon de *Verungia tenuissima* décrit par Ackermann et Burchard, dont 1,31% I et 6,25% Br pouvaient être fixés à 7,98% de tyrosine. Par ailleurs, il en est des spongines comme des gorgonines, la teneur en tyrosine constitue probablement le facteur limitant leur halogénation, mais l'intensité de celle-ci est régie par un processus physiologique d'activité variable. Les scléroprotéines de diverses éponges, bien qu'à peu près également riches en tyrosine, peuvent, de ce fait, être très inégalement iodées ou bromées. Aussi la composition des scléroprotéines des Coralliaires et des Spongiaires ne sera-t-elle susceptible de manifester une spécificité d'origine certaine que dans la teneur de ces corps en tyrosine totale et non en celle des produits de substitution iodés ou bromés de cet acide aminé.

L'étude du mécanisme de l'ioduration – et sans doute aussi de la bromuration – des scléroprotéines des Anthozoaires et des Spongiaires pose donc les mêmes problèmes que ceux déjà abordés, et en partie résolus, par la biochimie des thyroglobulines et des protéines artificiellement iodés. Elle conduit, en outre, à envisager l'existence de différences dans la composition de ces scléroprotéines selon leur origine zoologique et a suscité, par là même, des recherches sur la spécificité chimique de celles-ci.

IV. *Biochimie comparée des Scléroprotéines iodées et Classification des Anthozoaires et des Spongiaires*

L'inégalité de teneur de ces protéines en tyrosine acide aminé fixant l'iode et le brome, est un indice de leur diversité. Or, des écarts du même ordre ont déjà été mis en évidence dans la composition d'autres protéines, en particulier de chromoprotéides respiratoires et ont pu être reliés à la classification zoologique[1]. C'est ainsi que la spécificité des pigments hémoglobiniques se traduit par des différences importantes de composition entre les hémoglobines des vertébrés supérieurs (hémoglobines vraies) et celles des invertébrés (érythrocruorines), celles des Cyclostomes présentant à cet égard des caractères particuliers[2]. De même les hémocyanines des Mollusques diffèrent de celles des Crustacés et celles-ci du chromoprotéide respiratoire de la Limule[1]. Or, la classification des Anthozoaires et des Spongiaires n'apparaît pas aux systématiciens comme définitive; il y avait dès lors intérêt à rechercher dans quelle mesure l'étude biochimique des protéines constituant leur squelette corné peut permettre de l'étayer ou d'en suggérer certaines modifications.

Parmi les travaux antérieurs, seuls ceux de Block et Bolling et de Clancey ont apporté des résultats techniquement valables, mais limités aux gorgonines de *Gorgonia flabellum* et de *Plexaurella dichotoma*[3] et à la spongine d'*Euspongia officinalis*[4]. Des recherches étendues devaient être entreprises pour opérer les comparaisons envisagées et je m'y suis attaché depuis 1947 avec M. Eysseric-Lafon.

[1] J. Roche, *Essai sur la Biochimie générale et comparée des pigments respiratoires*, Ier vol. (Masson & Cie., Paris 1936), 176 p.

[2] J. Roche et M. Fontaine, C. r. Acad. Sci. *206*, 626 (1937); Ann. Instit. Océanograph. *20*, fasc. 3, 77 (1939).

[3] R. J. Block et D. Bolling, J. biol. Chem. *127*, 685 (1939).

[4] V. J. Clancey, Biochem. J. *20*, 1186 (1926). – R. J. Block et D. Bolling, J. biol. Chem. *127*, 685 (1939).

Tableau V

Teneurs en halogènes et en acides aminés de gorgonines provenant de divers genres de Gorgonellidés *(Ellisella, Scirpearia)* et de Muricéidés *(Muricea* et *Paramuricea)* et d'un Pennatulidé *(Funiculina quadrangularis)*

Halogène et acide aminé	*Ellisella elongata* Pallas	*Ellisella paraplexauroides* Stiasny	*Scirpearia flabellum* Johnson	*Muriceides chuni* Kükenthal	*Paramuricea placomus* (Linné)	*Funiculi-quadraagularis* Pallas
I%	1,80	1,61	1,82	1,95	1,98	0,10
Br%	2,15	1,85	2,20	traces	0,34	–
Monoïodotyrosine	2,50	2,25	traces	traces	traces	0
Diiodotyrosine	1,20	2,01	1,30	2,02	1,00	traces
Tyrosine non halogénée	3,20	3,00	2,97	2,48	4,70	0,60
Tyrosine totale	7,69	8,18	8,34	3,31 *	5,84	0,64 *
Arginine	8,55	8,35	8,40	9,70	7,60	8,50
Histidine	1,90	3,21	3,30	1,08	1,70	0,90
Lysine	4,30	4,15	3,80	5,25	10,90	3,35
Glycocolle	14,80	12,70	15,00	14,34	15,78	20,00
Tryptophane	1,20	1,80	1,26	0,54	1,08	traces
Cystine	3,35	3,60	3,61	3,05	3,60	1,90
Méthionine	0,38	–	0,40	–	–	0,33
Sérine	3,40	4,00	3,50	5,00	3,90	8,10

* Compte non tenu de la présence éventuelle de bromotyrosines.

A. *Cas des Hexacoralliaires.* – Les principaux résultats obtenus ont été rassemblés dans les tableaux IV, V et VI, où ne figure qu'une partie des données déterminées sur 30 espèces[1].

La composition de ces gorgonines présente des différences qui témoignent de leur spécificité. La signification qu'il convient de leur attacher se dégage clairement du fait que la teneur en acides aminés de multiples échantillons de la protéine d'une même espèce est pratiquement constante: son degré d'halogénation manifeste une certaine variabilité, mais le taux de la tyrosine totale demeure toujours identique. Dès lors, il y a lieu de discuter dans quelle mesure la composition en acides aminés d'une gorgonine peut permettre de caractériser l'espèce, le genre, la famille et l'ordre d'Octocoralliaires dont elle provient.

La protéine d'un seul Pennatulidé *(Funiculina quadrangularis)* a été analysée en dehors de celles de multiples Gorgonaires; elle se distingue de celles-ci par une extrême pauvreté en tyrosine totale (0,4%) et une teneur très élevée en glycocolle (20,00%), mais l'on ne saurait envisager dès maintenant l'existence de pennatulines distinctes des gorgonines. Par contre, les données recueillies sur celles-ci, entre autres chez les Gorgonidés et les Plexauridés, établissent que les gorgonines des divers genres sont caractérisés par leur composition, dont l'élément le plus représentatif est la teneur en tyrosine. Trois *Eunicella* étudiées renferment des scléroprotéines voisines, très riches en tyrosine (13,23, 14,66 et 17,14%) et dépourvues de tryptophane. De même celle de deux *Euplexaura* pauvres en tyrosine (1,59 et 2,81%), différentes de celles de *Plexaura kükenthalii* Moser, de teneur intermédiaire en tyrosine (8,60%) et plus pauvre en histidine et en glycocolle. La composition des deux gorgonines d'*Ellisella* est presque identique et il en est par ailleurs de même de celles de deux protéines de *Gorgonia* et de celles provenant de deux *Leptogorgia*. L'analyse chimique des gorgonines paraît donc, à première vue, permettre de caractériser les divers genres de Gorgonaires.

Deux exceptions se sont toutefois manifestées et ont exigé une étude particulière. L'une porte sur la diversité des protéines de deux espèces de *Rhipidigorgia*, l'autre sur la similitude de celles de Gorgonellidés appartenant à des genres différents: *Scirpearia flagellum* Johnson d'une part, *Ellisella paraplexauroides* (Stiasny) et *Ellisella elongata* (Pallas) d'autre part. Or, cette diversité porte sur des espèces dont la position systématique est encore discutée, en sorte que des données chimiques sont susceptibles d'apporter des arguments à son établissement définitif.

Gorgonine de	Tyrosine totale %	Tyrosine non halogénée %	I Total %
Gorgonia adamsii (Verrill)	3,49	3,18	0,54
Gorgonia crevauxi Stiasny	2,74	2,50	0,34
Gorgonia rutila (Verrill)	1,63	1,58	0,08
Gorgonia stenobrochis Val.	1,30	1,18	0,17
Gorgonia ventalina L.	1,59	1,44	0,22
Rhipidigorgia elegans (Linné)	1,76	1,70	0,08
Rhipidigorgia flabellum (Linné)	9,19	7,96	0,69

[1] L'identification des espèces étudiées a été réalisée soit par comparaison avec les échantillons types de la Collection du Laboratoire de Malacologie du Muséum d'Histoire naturelle de Paris, contrôlée par Stiasny, soit dans les cas les plus difficiles, par l'étude microscopique des spicules, faite par M. Ranson et par Mme Tixier-Durivault, auxquels j'exprime ici ma gratitude.

Tableau VI

Teneur en halogènes et en acides aminés de gorgonines provenant de divers genres de Gorgonidés (*Gorgonia, Leptogorgia* et *Rhipidigorgia*)

Halogène et acide aminé	*Gorgonia adamsi* (Verrill)	*Gorgonia ventalina* (Linné)	*Leptogorgia petechizans* (Pallas)	*Leptogorgia sarmentosa* (Esper.)	*Rhipidigorgia flabellum* (Linné)	*Rhipidigorgia elegans* (Linné)
I%	0,54	0,22	0,60	0,16	0,62	0,08
Br%	0,02	–	0,02	–	0,73	–
Monoïodotyrosine	traces	traces	traces	traces	traces	traces
Diiodotyrosine	0,70	traces	traces	0	traces	traces
Tyrosine non halogénée	3,18	1,44	2,48	2,15	7,96	1,71
Tyrosine totale	3,49	1,54 *	2,74	2,11 **	9,19	1,75
Arginine	7,50	6,60	8,75	7,00	6,60	4,50
Histidine	1,08	0	1,50	1,30	0	0,80
Lysine	7,20	6,10	9,90	–	6,90	1,90
Glycocolle	14,03	14,03	16,30	15,57	14,03	–
Tryptophane	0,92	1,28	indos.	–	–	–
Cystine	2,80	3,63	–	–	–	–
Sérine	3,70	3,00	4,70	4,40	9,27	–

* Leucine = 0,76%, valine 2,10% dans *Gorgonia adamsi* (Verrill). Des données sur *Leptogorgia chevallieri*, voisines de celles déterminées sur les gorgonines de deux autres *Leptogorgia* du même genre, n'ont pas été reproduites dans ce tableau.

** Compte non tenu de la présence éventuelle de bromotyrosine.

La gorgonine de *Rhipidigorgia flabellum* (Linné) se distingue nettement de celles des autres genres de Gorgonidés (*Gorgonia et Leptogorgia*) par une teneur beaucoup plus élevée en tyrosine totale (9,19% au lieu de 1,54 à 3,49%) et en sérine (9,27% au lieu de 3,00 à 4,40%), mais celle de *Rhipidigorgia elegans* (Linné) est beaucoup plus pauvre en tyrosine (2,0%). En fait, les résultats de l'analyse des protéines de cinq *Gorgonia* confirment l'exactitude de ce point de vue, comme l'indiquent les données au bas de la page 51.

La protéine de *Rhipidigorgia flabellum* (Linné) se distingue par sa composition, probablement caractéristique du genre auquel appartient cette espèce; celle de *Rhipidigorgia elegans* est à beaucoup d'égards plus proche de celle des *Gorgonia*. La modification de sa position systématique, avec la dénomination *Gorgonia elegans* (Duch. et Mich). paraît légitime à partir de ces résultats et, par ailleurs, de l'examen microscopique de ses spicules, auquel ont bien voulu procéder M. Ranson et Mme Tixier-Durivault.

Le cas de genres *Ellisella* et *Scirpearia* pose un problème inverse, car l'opportunité de fusionner des espèces de ces deux genres est actuellement en discussion. Il ne nous a été possible de doser un assez grand nombre d'acides aminés que dans deux espèces du premier [*E. elongata* (Pallas) et *E. elongata paraplexauriodes* (Stiasny)] et dans une du second [*Scirpearia flabellum* (Johnson)] en raison de la rareté des autres espèces. Mais les analogies de composition de ces trois protéines (tabl. IV) se sont montrées aussi étroites que celles existant entre des espèces très voisines d'un même genre. Les teneurs en tyrosine totale et en iode des protéines des *Scirpearia et Ellisella* étudiées sont celles indiquées au bas de la colonne à gauche.

Gorgonine de	Tyrosine totale %	Tyrosine non halogénée %	I Total %
Ellisella andamanensis (Simpson)	0,99	0,50	0,70
Ellisella elongata Pallas	7,23	3,20	1,80
Ellisella paraplexaurides Stiasny	8,18	3,00	1,61
Scirpearia erythraea (Kükenthal)	1,00	0,48	0,60
Scirpearia flabellum Johnson	8,34	2,97	1,82
Scirpearia ramosa Simpson	1,95	1,70	0,36

Des analogies et des différences se manifestent entre certaines espèces de ces deux genres. Il est probable à la fois que ceux-ci ne doivent pas être fusionnés et que certaines de leurs espèces respectives doivent faire l'objet d'une nouvelle classification. *Scirpearia flabellum* Johnson, *Ellisella elongata* (Pallas), et *Ellisella paraplexauroides* Stiasny renfermant des gorgonines de composition pratiquement identique et, leurs caractères morphologiques étant voisins, nos résultats sont en faveur de l'opinion tendant à classer la première dans le genre *Ellisella*, sous le nom d'*Ellisella flabellum* (Johnson). Par ailleurs à ne considérer que leur gorgonine, deux *Scirpearia (S. erythraca* et *S. ramosa)* sont très proches d'*Ellisella andamanensis*. La spécificité de genre de ces protéines s'étant montrée assez étroite dans d'autres familles de Gorgonaires, il serait souhaitable qu'une large prospection de la teneur en tyrosine des espèces d'*Ellisella* et de *Scirpearia* soit entreprise pour contrôler leur classification.

B. *Cas des Octocoralliaires.* – L'axe corné d'Hexacoralliaires (Gérardiidés et Antipathaires) renferme, comme celui de nombreux Octocoralliaires, une scléroprotéine halogénée et il y avait lieu d'étendre nos recherches à l'étude de sa composition.

La comparaison du tableau VII et des tableaux V et VI met en évidence la diversité des scléroprotéines

Tableau VII

Teneurs en halogènes et en acides aminés d'Antipathines d'un Gérardinidé (*Gerardia savaglia* Bertolini) et de divers Antipathaires des genres *Antipathes* et *Cirripathes*

Halogène et acide aminé	*Gerardia savaglia* Bertolini	*Antipathes myriophylla* Pallas	*Antipathes subpinnata* Ellis et Solander	*Cirripathes anguina* Dana	*Cirripathes spiralis* Blainv.
I%	0,80	2,18	1,29	2,90	4,07
Br%	0,08	–	–	–	0,20
Monoïodotyrosine	traces	0,50	0,50	4,40	7,14
Diiodotyrosine	1,40	1,40	0,95	2,10	2,20
Tyrosine non halogénée	7,80	4,45	3,50	5,90	6,73
Tyrosine totale	8,47	5,31 *	4,41 *	9,30 *	12,00
Arginine	4,10	3,05	3,05	3,30	3,25
Histidine	13,10	12,45	15,40	15,35	17,60
Lysine	6,00	12,75	10,95	6,85	6,60
Glycocolle	23,00	14,60	13,90	16,40	12,36
Leucine	0,80	–	–	–	0,[illegible]
Valine	0,60	–	–	–	1,68
Tryptophane	1,30	0,80	0,60	1,20	1,60
Cystine	2,22	2,40	2,50	1,50	1,68
Méthionine	indos.	0,30	0,35	0,35	0,90
Sérine	2,50	3,50	4,30	2,50	2,30

* Compte non tenu de la présence éventuelle de bromotyrosines.

des Hexacoralliaires étudiés et des gorgonines d'Octocoralliaires; aussi nous a-t-il paru nécessaire de les dissocier[1] et de désigner les premières sous le nom d'antipathines. Un caractère biochimique exceptionnel est commun à celles-ci: leur teneur en histidine est très élevée (de 12,45 à 17,60%), alors que toutes les autres scléroprotéines connues sont pauvres en cet acide aminé (1,0 à 3,0%) ou en sont même dépourvues. Elles renferment en outre moins d'arginine et plus de lysine que les gorgonines.

La protéine de *Gerardia savaglia* Bertolini est peu différente de celles d'Antipathaires et nous l'avons, de ce fait, réunie à celles-ci. Du point de vue biochimique, la position systématique des Gérardiidés ne saurait être considérée comme très fermement établie. L'ancienne classification considère les Gérardiidés comme une famille d'Antipathaires, tandis que la classification en général admise aujourd'hui en fait une famille de l'ordre des Zoanthaires. Les résultats de notre travail paraissent être en faveur de la première, d'autant que la scléroprotéine de soutien d'un Zoanthaire étudié par nous, *Palythoa mammillosa* est assez différente de celle de *Gerardia* (I % = 0,27, tyrosine % = 2,08, glycocolle = 10,2, sérine = 5,00, cystine = 1,12). Néanmoins la valeur des arguments morphologiques sur lesquels repose la seconde ne saurait être sous-estimée. Il en découle que les Gérardiidés constituent probablement un groupe de Zoanthaires apparentés aux Antipathaires. Enfin, les protéines de ces derniers présentent, comme les gorgonines, des caractères de genre, se manifestant dans leurs teneurs respectives en tyrosine. L'examen de données établies sur deux *Antipathes* et deux *Cirripathes* sont à cet égard significatives. Le nombre d'espèces étudiées est néanmoins trop restreint pour qu'il y ait lieu de discuter longuement les résultats obtenus, dont le principal intérêt est de montrer que les scléroprotéines d'axes cornés des Hexacoralliaires et des Octocoralliaires sont fondamentalement différentes et, par ailleurs, caractéristiques de chacuns.

C. *Cas des Spongiaires.* – L'étude des spongiaires n'a pas été poursuivie sur une aussi large échelle et leur composition ne se prête pas à une caractérisation aussi directe des genres. L'examen du tableau VIII rend compte des résultats obtenus sur quelques unes d'entre elles.

Les spongines présentent un type général de composition distinct de celui des gorgonines et des antipathines; elles sont relativement pauvres en tyrosine et plus encore en histidine. Parmi les quatorze espèces étudiées, quatre ont des teneurs en tyrosine totale voisines de 5%, mais il semble que celle-ci soit variable dans le genre *Aplysina*. Il est certain qu'une spécificité de composition des spongines se manifeste, comme l'indiquent les résultats rassemblés dans le tableau VIII; mais ceux-ci sont trop limités pour servir de base à une discussion utile. L'étude de nombreuses espèces de genres divers conduirait sans doute à la caractérisation biochimique de ceux-ci comme elle l'a permis chez les Anthozoaires; elle mérite d'être poursuivie.

V. *Conclusions générales*

La biochimie des scléroprotéines halogénées des Anthozoaires et des Spongiaires s'est développée dans deux domaines: à savoir l'halogénation de ces protéines et leur biochimie comparée. Aucun problème particulier ne s'est posé jusqu'ici à propos du mécanisme de leur

[1] J. Roche et M. Eysseric-Lafon, C. r. Acad. Sci. *231*, 1582 1950).

Tableau VIII

Teneurs en halogènes et en acides aminés de spongines de divers genres et espèces de Cératospongiaires

Halogène et acide aminé	*Aplysina crassa* Hyatt	*Aplysina holda* Lind	*Euspongia officinalis*	*Siphonscalina pruvoti* Topsent.	*Verrungia fistularis*
I%	2,35	0,47	0,51	0,20	0,50
Br%	6	0,09	0,41	indos.	0,12
Monoïodotyrosine	traces	traces	traces	0	traces
Diiodotyrosine	4,22	traces	0,77	traces	traces
Tyrosine non halogénée	2,07	2,30	0,32	0,77	4,23
Tyrosine totale	3,82	2,63	1,17	0,85	4,70
Arginine	3,00	–	5,75	4,92	3,30
Histidine	0,74	–	0,28	0	1,12
Lysine	9,65	–	5,15	3,50	8,75
Glycocolle	9,50	7,68	15,76	12,00	10,40
Cystine	1,80	0,26	1,50	1,04	2,25
Méthionine	0	0,27	0	0,43	–
Sérine	2,97	6,20	8,00	4,70	6,52
Tryptophane	0,36	traces	0,10	traces	2,30
Leucine	–	1,66	0	–	–
Valine	–	1,33	2,20	–	–

ioduration ou de leur bromuration. Ses éléments biologiques (concentration et oxydation des iodures des eaux) sont probablement identiques au niveau du squelette corné des invertébrés et dans le corps thyroïde des vertébrés. Par ailleurs, l'halogénation préférentielle de la tyrosine dans ces protéines et dans celles iodées *in vitro* est un phénomène général. Son existence est liée à la composition même de ces corps et son rendement à leur structure. La teneur en tyrosine des scléroprotéines d'invertébrés est le facteur limitant de leur halogénation et sa diversité explique dans la plupart des cas les écarts importants de la teneur en iode observés dans le cadre de différents genres appartenant à une même famille.

La composition de ces protéines présente une spécificité importante à définir pour la biochimie comparée. Plus marquée que celle des autres protéines étudiées antérieurement, son intérêt se manifeste en tant qu'élément d'identification de divers groupes d'Anthozoaires, et même de genres et d'espèces de ceux-ci. Les gorgonines d'Octocoralliaires répondent à un type général de composition nettement différent de ceux des antipathines d'Hexacoralliaires et des spongines. Néanmoins, ni les premières, ni les secondes, ne sont identiques dans le cadre d'une même famille d'Anthozoaires et la scléroprotéine de chaque genre doit être considérée comme particulière à celui-ci. Il en découle que sa composition constitue un caractère biochimique des genres, dont la validité s'est déjà manifestée dans un petit nombre de cas faisant l'objet de discussions entre systématiciens. Nos recherches sont trop peu étendues pour que leurs conclusions puissent être généralisées, mais elles orientent la biochimie comparée des Anthozoaires vers une voie que l'on est en droit d'espérer féconde. On ne saurait, en l'état actuel de nos connaissances, fonder déjà le même espoir sur l'étude des spongines, laquelle mérite néanmoins d'être poursuivie dans le même but que celle des gorgonines.

La caractérisation biochimique des familles, des genres et des espèces, a surtout été tentée jusqu'ici en se basant sur des différences dans des réactions métaboliques et dans la spécificité de systèmes enzymatiques y participant. L'étude des scléroprotéines des Anthozoaires constitue sans doute le premier essai assez large de contrôle biochimique de la classification zoologique au niveau des genres et des espèces basé sur la nature d'un de leurs constituants protéiques.

Summary

(1) The scleroproteins of the corneous skeleton of various *Anthozoa* (gorgonins) and sponges (spongins) contain iodine in various levels and, usually, much less bromine. Apart from diiodo-and dibromotyrosine, which have been known for a long time, monoiodo- and monobromotyrosine have been characterized with traces of thyroxine in these proteins. The strict analogy between the mechanism of the formation of these derivatives by direct action of the halogens on proteins *in vitro* and their biosynthesis is discussed.

(2) The tyrosine content is the biochemical limiting factor for the fixation of iodine and bromine in the gorgonins and spongins. As it is frequently very different in various genera, it has been considered as a specific biochemical character of the genus.

(3) The amino acid composition of numerous gorgonins from *Gorgonaria* is specific for each genus studied. The halogenated scleroproteins of *Antipathidae* and of *Gerardiidae* are of an identical type, very different from the gorgonins of *Gorgonaria*. The name antipathin has been adopted for these proteins, which are particularly rich in histidine (up to 17 %). The spongins are proteins of a different composition; they are not identical in various sponges.

(4) The comparative biochemistry of the gorgonins and antipathins, based on the studies summarized above, provides an excellent control of the zoological classification of numerous geni. An example of the efficiency of this control is given by the fact that a few species of dubious genus have been identified chemically as well as by new morphological studies.

Brèves communications - Kurze Mitteilungen
Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschließlich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

Zur Kristallographie von Cu(OH)Cl[1]

Die Verbindung Cu(OH)Cl (I) wurde durch Erhitzung von 10 g $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ mit 5 g Marmor im Bombenrohr auf 240°C während 48 Stunden gewonnen. Nicht umgesetztes $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ wurde mit siedendem abs. Alkohol abgetrennt. (I) fällt zum Teil in gut ausgebildeten gelbgrünen Einzelindividuen von blättrigem Habitus (lineare Dimensionen ca. 0,5–1,0 mm), zum großen Teil in Form von Kristallagglomerationen aus. Es reagiert mit H_2O unter Bildung von $CuCl_2 \cdot 3Cu(OH)_2$ (Hydrolyse): $4Cu(OH)Cl + 2H_2O \rightarrow CuCl_2 \cdot 3Cu(OH)_2 + 2HCl$. Die durchscheinenden Kristalle von (I) verfärben sich allmählich gegen Blaugrün und werden dabei opak. Wie Abbildung *b* zeigt, behalten die Kristalle jedoch ihre Größe und Gestalt. Das Pulverdiagramm des Endproduktes zeigte die Reflexe von basischem Kupferchlorid IIγ[2], das mit dem Paratakamit[3] identisch ist.

a Basisches Kupferchlorid I, Cu(CH)Cl.
b Basisches Kupferchlorid IIγ (≡ Paratakamit) aus I und Wasser.

Die kristalloptische Untersuchung zeigte, daß (I) optisch negativ und zweiachsig ist, mit der Ebene der optischen Achsen normal zur Blättchenebene und einem Winkel zwischen der einen optischen Achse und der Blättchennormalen von ca. 46° (monoklin, geneigte Dispersion).

Messungen am optischen Zweikreisgoniometer lieferten die Formen {100}, {110}, {120}, {011}, {111}, {11$\bar{1}$} und {21$\bar{1}$} bei monoklin-holoedrischer Symmetrie $C_{2h} - 2/m$ und ein Achsenverhältnis $a:b:c = 0{,}9165:1:0{,}8308$ mit $\beta = 115°55'$. Dabei wurde die Blättchenebene zu (100) gewählt. Die gemessenen (φ,ϱ)-Werte der 7 Fornen sind in folgender Tabelle vereinigt:

hkl	φ	ϱ
100	90° 03′	90° 01′
110	50° 27′	90° 02′
120	20° 00′	90° 03′
011	29° 13′	43° 35′
111	61° 18′	58° 53′
11$\bar{1}$	32° 36′	44° 43′
21$\bar{1}$	61° 23′	60° 02′

Drehaufnahmen ergaben die Gitterkonstanten $a = 6{,}11$, $b = 6{,}67$, $c = 5{,}51$ Å, $a:b:c = 0{,}916:1:0{,}826$ in sehr guter Übereinstimmung mit den morphologischen Daten. Das Volumen V der Elementarzelle wird gleich 202 Å^3. Die pyknometrisch bestimmte Dichte ist $d = 3{,}78$ gcm^{-3}, woraus sich $Z = 3{,}99 \approx 4$ Formeleinheiten Cu(OH)Cl pro Zelle ergibt ($d_{röntg.} = 3{,}79$). Die Indizierung der Schiebold-Sauter-Röntgengoniometerdiagramme führte auf die Raumgruppe $C_{2h}^5 - P2_1/c$ [(hkl) alle, (h0l) nur mit $l = 2n$, (0k0) nur mit $k = 2n$ vorhanden].

W. Nowacki und K. Maget[1]

Mineralogisches und Anorganisch-Chemisches Institut der Universität Bern, den 25. Oktober 1951.

Summary

The morphology, lattice constants, and symmetry of Cu(OH)Cl have been determined.

[1] Jetzt: Holzverzuckerungs-AG., Domat-Ems, Gr.

[1] Mitteilung Nr. 66 von W. Nowacki und Mitarbeiter.
[2] W. Feitknecht und K. Maget, Helv. chim. acta *32*, 1639 (1949).
[3] Cl. Frondel, Min. Mag. *29*, 34 (1950).

Zum Säurebindungsvermögen der Serumproteine

Serum wurde mit Wasser verdünnt und mit verdünnten Säuren behandelt. Dabei genügt eine Erhöhung der Wasserstoffionenkonzentration (h) auf pH 6,8–6,5, um alle Proteine des Serums zu fällen. Bei höherer h gehen sie wieder in Lösung. Serum, das in Verdünnung 1/10 auf dem Wasserbad gekocht war, reagierte in gleicher Weise, doch sind Fällung und Wiederlösung deutlicher. Um eine Fällung zu erzielen, mußte das Serum mindestens 1/5 verdünnt sein; mit steigender Verdünnung fällt der Säureverbrauch linear ab. Salzzusatz von wenigen Promillen verhindert die Säurefällung.

Da sich die so gefällten Proteine leicht abzentrifugieren und waschen sowie wieder lösen lassen, erwies sich

die Methode als geeignet zur Bestimmung der Pufferkapazität der Proteine. Sie ergab sich für die Proteine zu 1/3 der gesamten Serumpufferung.

Aus jedem Versuchsansatz lassen sich die Ergebnisse in ein Netz eintragen, dessen Ordinate γH·, dessen Abszisse den Proteingehalt angibt. Gewöhnlich ergibt sich dann eine Gerade, deren Neigungswinkel durch

$$\operatorname{tg} a = \frac{\gamma \mathrm{H}}{\mathrm{g\ Prot}} = L\ (= \text{Labilitätskonstante}) = \frac{f\,b\,h}{10\,a\,r}\ ^{1}$$

stimmt wird. L ist für jedes Serum charakteristisch und kann zur Kennzeichnung krankhafter Veränderungen benützt werden. Abbildung 1 zeigt, in welchen Grenzen der Säureverbrauch schwankt, während das pH des Fällungsmaximums nur zwischen pH 6,7–6,3 variiert.

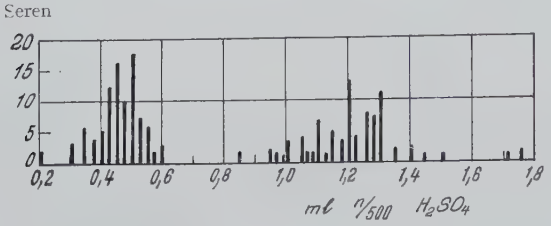


Abb. 1. Streuung von etwa 100 Seren, links Flockung, rechts Peptisation von 2 ml Serum 1/50.

Das Serum verbraucht durchschnittlich pro Milliliter 28 γH· bis zur Fällung und das Doppelte zur Wiederlösung. Wird die Proteinpufferung zu 1/3, der Proteingehalt zu 7%, das durchschnittliche Molekulargewicht zu 93000 eingesetzt, so bindet ein Molekül Serumeiweiß bis zur Peptisation etwa 28 H-Ionen und besitzt entsprechend viel freie COO^-- und NH-Gruppen.

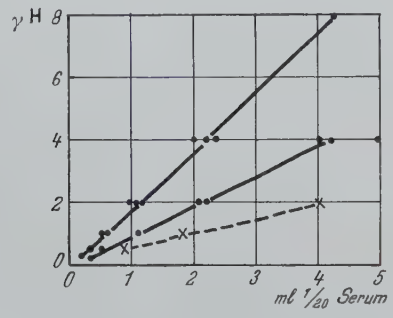


Abb. 2. Titration von Serum in Säure und umgekehrt in verschiedenen Konzentrationen auf 1/20 ml Serum berechnet. ×–×–×: ungekocht, ·–·–·: gekocht.

Bei Zugrundelegung der Dissoziationstheorie nach Michaelis[2] kann das Fällungsmaximum als Scheitel einer Dissoziationsrestkurve angesehen werden. Das Serum verhält sich demnach wie ein einheitliches, lyophiles Kolloid mit zwei Dissoziationskonstanten, deren Produkt aus der Lage des Fällungsmaximums zu K1·K2 = 10^{-20} berechnet werden kann. K1 läge bei 10^{-9} für COOH, K2 bei 10^{-11}. Der isoeletrische Punkt läßt sich daraus berechnen nach

$$\sqrt{\frac{\mathrm{K1}}{\mathrm{K2}} \cdot 10^{-14}}$$

und ergibt sich für Serum als monodisperses Kolloid zu pH 6. Er liegt also nahe beim Fällungsmaximum, ohne mit ihm identisch zu sein. Die Umladung des Proteins zwischen Fällung und Wiederlösung wurde durch Adsorption an Filterpapier bestätigt[1].

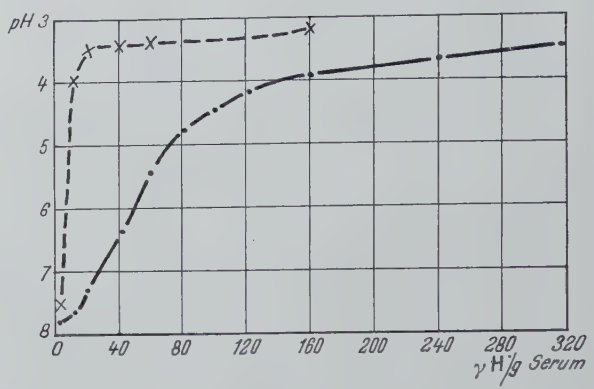


Abb. 3. Mischserumverdünnung 15 min gekocht, wurde mit n/1000 H_2SO_4 versetzt, die ionometrisch auf pH 3 eingestellt war. ×–×–× Leerwert ohne Serum.

Die Salzbildung des Proteins mit Anionen veränderte den Ausfall nicht, im Gegensatz zu der Erfahrung, die Kopaczewski[2] mit der Säureerstarrung von Serum machte. Es wurde dies durch Vergleich der Wirkung verschiedener ein- und mehrbasischer Säuren erwiesen. Ebenso konnte kein Unterschied des Säureverbrauches bei Temperaturen zwischen 80° und 5°C gefunden werden. Aus ähnlichen Ergebnissen schloß Skotnicki[3], daß die Serumpufferung nicht von Elektrolyten abhängen könne. Zum selben Ergebnis kamen auf Grund anderer Versuche auch Glass[4] und Gex, Schuhler[5]. Dem entgegen steht die wohlbegründete Auffassung der Mehrzahl der Untersucher, daß die Pufferkapazität des Blutes nur zu 1/11 bis 1/6 von den Proteinen getragen wird. Auch die Ergebnisse der beschriebenen Methodik stützen mehr die letztere Ansicht und lassen vermuten, daß die gegensätzlichen Meinungen auf die Unterschiede der Methoden zurückzuführen und so zu deuten seien, daß Proteine und Elektrolyte des Serums auch in bezug auf die Pufferung als Komplex gedacht werden müssen, in dem je nach Behandlung gewisse Eigenschaften der Elektrolyte mehr oder minder zum Ausdruck kommen[6].

Zusammenfassend ergibt sich, daß das Säurebindungsvermögen des Serums beträchtlich ist, jedoch in der verwendeten Anordnung höchstens 1/3 seiner Pufferkapazität den Proteinen zugeschrieben werden kann. Es wird gezeigt, daß Serum bei pH 6,5 total ausflockt, wenn seine Endkonzentration unter 1/5 liegt. Dabei verbrauchte ein Milliliter Serum durchschnittlich 28γH·. Nach Ionenentzug verhält sich Serum wie die Lösung eines einheitlichen Proteins mit einem i.e.P. bei pH 6. Es kann also ohne Erhöhung der Ionenstärke nicht in die bekannten Fraktionen zerlegt werden. Die Differen-

[1] f = Serumverdünnungsfaktor, b = Säuremenge, h = Normalität der Säure, a = Serummenge, r = Prozentgehalt des Serums an Protein. Allerdings müßte die zugeführte H-Menge noch um die Differenz zwischen der h des Reaktionsproduktes und der ursprünglichen h vermindert werden. Dieser Betrag ist von unerheblicher Größe.

[2] L. Michaelis, *Die Wasserstoffionenkonzentration*, Bd. I und II (Springer-Verlag, Berlin 1922).

[1] B. Jirgensons und M. Straumanis, *Lehrbuch der Kolloidchemie* (Springer-Verlag, Berlin 1944).

[2] W. Kopaczewski, C. r. Acad. Sci. *00*, 266 (1935).

[3] J. Skotnicky, Z. physik. Chem. *191A*, 180 (1942).

[4] J. Glass, Wiener Klin. Wschr., Jg. 49, 1460 (1936)

[5] M. Gex und H. Schuhler, Arch. Phys. Biol. Ch. Phys. C. organ. Suppl. II, 123 (1943).

[6] W. Seitz, Klin. Wschr. *22*, 118 (1944).

zen im Säureverbrauch verschiedener Seren sind größer, als bei der vom normalen Organismus sehr konstant gehaltenen Elektrolytzusammensetzung zu erwarten wäre, und hier ergibt sich die Möglichkeit einer diagnostischen Auswertung der Labilitätskonstanten L.

K. Simon

Medizinische Universitäts-Poliklinik, München, den 4. September 1951.

Summary

The absorption of acid by sera is considerable, but only one third of its buffer capacity can be ascribed to protein. It is shown that serum is totally precipitated at pH 6·5, provided that its final concentration does not exceed 1/5. The average adsorption of precipitated serum approaches $28\gamma H^{\cdot}$/ml. Deprived of its ions, serum will behave like a monodisperse solution of a protein with an isoionic point at pH 6. This means that it cannot be disintegrated into the well-known fractions without raising the ionic strength. Differences between the H-adsorption of individual sera exceed the figures which would be expected by considering the electrolyte composition, allowing for only very small variations in normal organisms. The possibility of the diagnostic use of the lability constant L is suggested.

Einige Bemerkungen über die Epikutikula der Wolle

Lindberg, Philip und Gralén[1] fanden 1948 mit Hilfe des Elektronenmikroskops, daß eine dünne Membran, die Epikutikula, das tierische Haar umschließt. Seitdem sind mehrere Hypothesen über das Entstehen und über die chemische Zusammensetzung dieser Membran veröffentlicht worden[2].

Neuerdings hat Zahn[3] in einer Fußnote zu einem Artikel über *Die Epikutikula und die Allwördensche Reaktion* einige Bemerkungen gemacht, die uns zur Veröffentlichung unserer eigenen Befunde veranlassen. Ebenso wie Zahn fanden wir, daß die Epikutikula im Phasenkontrastmikroskop sichtbar gemacht werden kann (vgl. dazu auch Mariner[4]). Zur Isolierung der Membranen wurde Wolle 20 min lang mit gesättigtem Bromwasser behandelt. Nach Auswaschen wurde die Wolle mit Wasser geschüttelt, um eine Suspension von Fragmenten der Allwördenschen Blasenwand zu liefern. Die Wand dieser durch die Bromwirkung verursachten Blasen wird aus der Epikutikula gebildet[5].

Mit dieser Membransuspension als Ausgangsmaterial wurden Präparate hergestellt, die sowohl mit dem Phasenkontrastmikroskop als mit dem Elektronenmikroskop untersucht wurden.

Die Abbildungen zeigen drei Membranteile: zwei sind teilweise zusammengerollt, der dritte ist jedoch flach ausgebreitet. Abbildung 1 wurde nach dem Phasenkontrastverfahren hergestellt, während die elektronenmikroskopische Aufnahme (Abb. 2) des gleichen Präparates nach «shadow-casting» mit Gold-Manganin mit einer Neigung von 1:5 gemacht wurde. Die Membrandicke ist etwa 100 Å.

[1] J. Lindberg, B. Philip und N. Gralén, Nature *162*, 458 (1948).

[2] R. L. Elliot und B. Manogue, Dyer *105*, 361 (1950). – N. Gralén, J. Soc. Dyers Col. *66*, 465 (1950).

[3] H. Zahn, Melliand Textilber. *32*, 419 (1951).

[4] P. F. Mariner, Nature *167*, 231 (1951).

[5] J. Lindberg, Text. Res. J. *19*, 43 (1949). – G. J. Schuringa und L. Algera, Biochim. biophys. acta *6*, 325 (1950).

Die Epikutikula kann nicht nur mittels Brom isoliert werden, sondern auch nach Lösen der sonstigen Bestandteile der Wolle in einer Natriumsulfidlösung[1]. Die Dimensionen der auf diese Weise erhaltenen Membranen sind viel größer als die der Schuppenzellen.

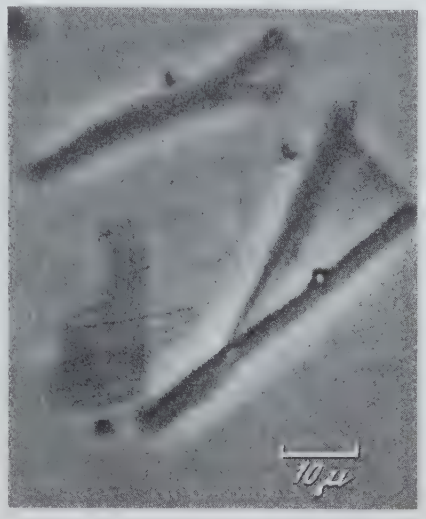


Abb. 1. – Epikutikula der Wolle. Phasenkontrastverfahren.

Die Epikutikula besteht hauptsächlich aus Proteinen, wie dies von uns, ebenso wie von Zahn, durch Hydrolyse der Membranen und durch Papierchromatographie des Hydrolysates festgestellt wurde. Im Gegensatz zur halogenierten Epikutikula enthalten die Membranen nach Isolierung mittels Natriumsulfid sämtliche Aminosäurereste, welche man in Wolle findet. Die Bemerkung von Zahn, daß Zystin, Tyrosin und Histidin fehlen, kann dadurch erklärt werden, daß diese Aminosäuren beim Isolieren der Membranen mittels Chlor bzw. Brom oxydiert werden. Aber auch durch die Einwirkung von Natriumsulfid wird die Epikutikula chemisch geändert, zum Beispiel werden Zystinbrücken in Lanthioninbrücken verwandelt.

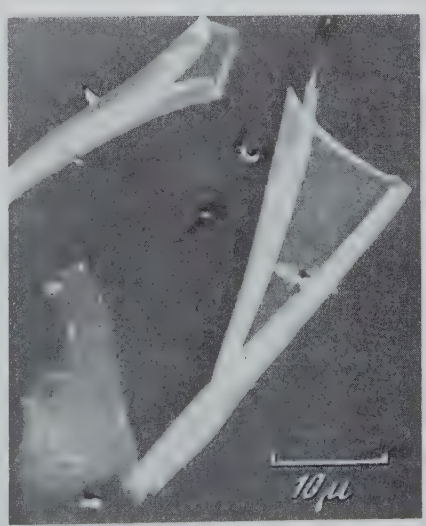


Abb. 2. – Epikutikula der Wolle. Elektronenmikroskopische Aufnahme des Technisch-Physischen Dienstes TNO.; Gold-Manganin «shadow-cast» 1:5.

[1] J. Lindberg, B. Philip und N. Gralén, Nature *162*, 458 (1948).

Der Proteincharakter der Epikutikula wurde von uns auch durch Röntgenaufnahmen bestätigt.

Die Behauptung, daß die Epikutikula von der Talgdrüse[1] gebildet werde, haben wir histochemisch widerlegt: An einer viel niedrigeren Stelle als der Ausmündung der Talgdrüse ist die Membran am Haar nachweisbar und sogar bereits dort, wo Thiolgruppen im entstehenden Haar vorhanden sind. Die Kerne der Spindelzellen sind in dieser Zone noch kaum degeneriert und können leicht sichtbar gemacht werden.

Eine ausführliche Mitteilung ist im Druck begriffen.

G. J. Schuringa, L. Algera, J. Isings und A. J. Ultée Jr.

Vezelinstituut TNO. (Forschungsinstitut für Fasern «TNO.») Delft, den 8. Oktober 1951.

Summary

It is demonstrated that the *same* epicuticle membranes of wool which can be made visible by the electron microscope, are also visible in phase contrast microscopy. They consist of a protein and are not formed by the sebaceous gland.

[1] R. L. Elliot und B. Manogue, Dyer *105*, 361 (1950).

L'ultra-structure du nucléole de quelques cellules animales, révélée par le microscope électronique

Nous avons déjà signalé brièvement au cours d'une récente communication[1], l'aspect particulier du nucléole tel qu'il peut se présenter sur des coupes ultra-fines (0,2 μ >) à l'examen au microscope électronique. Il nous a été possible, non seulement de retrouver ces images que nous avions qualifiées de «pelotonnées», mais encore de les obtenir avec une plus grande netteté et avec plus de détails, dans le foie du rat et dans des organes divers du même animal [pancréas, rate, hypophyse, hépatome malin et tumeur T. 58 (myélome)], ainsi que dans un épithélioma mammaire de la souris et dans le rein de l'homme. Les résultats obtenus ont été sensiblement identiques. Mais c'est le foie de rat qui nous a fourni le matériel principal de ces recherches, effectuées selon une technique décrite antérieurement[2]. (Fixation des tissus à l'acide osmique, inclusion à l'Esterwax, coupes avec l'ultra-microtome Rocking, examen au microscope électronique Trüb-Täuber, 50 kV.)

Dès que l'épaisseur des coupes se trouve réduite au-delà de 0,2 μ, une grande partie des nucléoles ne présentent plus leur aspect opaque habituel, mais prennent une *apparence pelotonnée*. Ce peloton est formé par des filaments dont l'épaisseur varie suivant l'état fonctionnel de la cellule de 90 à 180 mμ (fig. 1). Dans d'autres préparations plus minces, la structure pelotonnée fait place à un groupement de tronçons filamenteux dont les éléments sont assez polymorphes: sinueux, crochus, recourbés, pouvant rappeler toutes proportions gardées des images de chromosomes (fig. 2). Leur longueur peut varier considérablement et nous ne pouvons dire avec certitude s'il s'agit d'une longue unité coupée en plusieurs morceaux ou si la multiplicité de ces composants nucléolaires existe *in vivo*. Certains fragments sont renflés et montrent des épaississements qui leur donnent un aspect moniliforme (fig. 3).

[1] W. Bernhard, A. Gautier, Ch. Oberling, C. r. Soc. Biol. *145*, 566 (1951).

[2] W. Bernhard et A. Gautier, Bull. Cancer *38*, 294 (1951).

Plus rarement, on observe un réseau qui peut être dû à une coalescence vraie des constituants filamenteux ou à un effet purement optique de filaments croisés, mais dans certains cas, l'existence d'une structure réticulaire réelle ne peut être niée. Une particularité morphologique constatée jusqu'ici seulement dans quelques coupes de la

Fig. 1. – Noyau d'une cellule hépatique de rat avec 2 nucléoles coupés dont la structure pelotonnée est facilement visible (10000 ×).

rate de rat, doit encore être signalée: on y trouve des nucléoles coupés qui donnent l'image d'un anneau, représentant peut être la paroi épaisse d'une vacuole. Nous n'avons jamais pu observer le même phénomène dans des milliers de cellules hépatiques. (Figure 4 représente schématiquement les types les plus caractéristiques des nucléoles observés.)

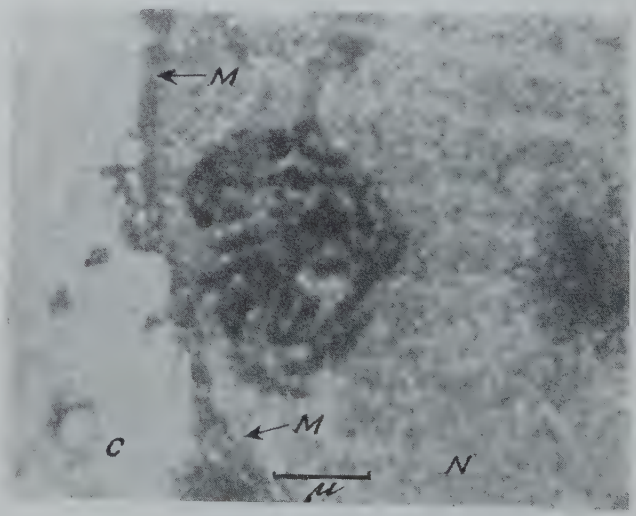


Fig. 2. – Partie d'un noyau *N* d'une cellule hépatique de rat. Coupe très fine d'un grand nucléole montrant sa structure en tronçons de filaments. *M* Membrane nucléaire, *C* Cytoplasme (13000 ×).

Nous nous sommes demandés si ces structures que nous venons de décrire sont constantes ou si elles ne répondent qu'à une étape déterminée d'un cycle fonctionnel du nucléole. Pour élucider cette question, d'une part, nous avons soumis un lot de rats à un jeûne de 5 jours, puis ces animaux ont reçu une nourriture riche en protéines (régime de LAGERSTEDT[1]); d'autre part, nous avons examiné des cellules hépatiques en pleine régénération, 48 heures après avoir pratiqué l'ablation partielle du foie (DROCHMANS[2]). Dans les deux cas on trouve des cellules hépatiques avec des nucléoles énormes dans un grand noyau entouré d'une basophilie cytoplasmique intense. Mais le nucléole, aussi bien en repos qu'en pleine activité, garde sa structure pelotonnée, seule l'épaisseur des filaments constituants varie de 90 à 180 mμ. Quant aux variations structurales du nucléole au cours de la mitose, elles n'ont pas encore été étudiées.

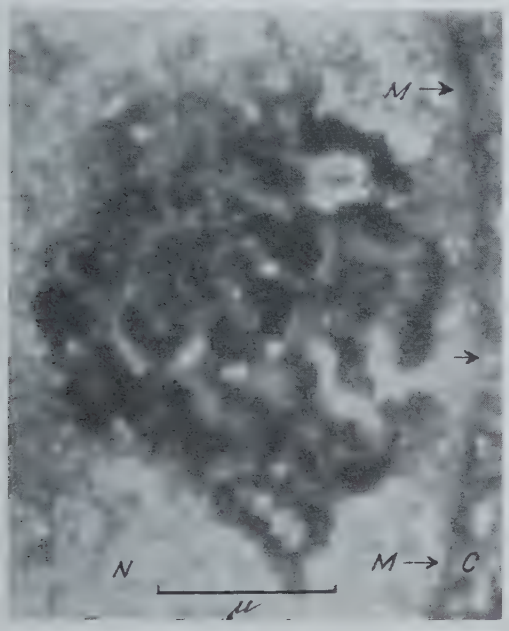


Fig. 3. – Coupe d'un gros nucléole de la même préparation. Aspect moniliforme des fragments. *N* Noyau, *M* Membrane nucléaire, *C* Cytoplasme (27 000 ×).

Les observations que nous venons de faire peuvent être rapprochées des constatations faites auparavant sur l'hétérogénéité morphologique du nucléole: A vrai dire, des formations filamenteuses du corpuscule nucléaire n'ont jamais été signalées, sauf dans un cas très spécial: JÖRGENSEN (1913)[3] trouve un cycle nucléolaire très complexe dans l'œuf d'une Leptoméduse dont un stade serait caractérisé par des filaments dispersés dans le cytoplasme. Son dessin est cependant très différent de nos images. Par contre, l'aspect *vacuolaire* ou *alvéolaire* du nucléole (VIGIER, GABE et PRENANT, ALTMANN[4]) ainsi que des corps d'inclusion (SERRA et QUEIROZ-LOPEZ[5]) ou le bourgeonnement nucléolaire (GATES[6], SERRA et QUEIROZ, LOPEZ, ARVY[1]) ont fait l'objet d'études diverses. On imagine très bien qu'un reticulum ou un peloton puisse être interprété à un faible grossissement comme une image vacuolaire, surtout quand il y a une superposition de plans nombreux dans des coupes dont l'épaisseur est supérieure à celle du nucléole. Enfin, la transformation de la substance nucléolaire en vacuole unique est possible (nucléoles de la rate signalés ci-dessus, voir aussi ALTMANN[2]).

Fig. 4. – Dessin schématique montrant quelques types caractéristiques de nucléoles coupés. L'anneau du rang inférieur est dessiné d'après un cliché provenant de la rate de rat, les autres représentent des nucléoles de cellules hépatiques.

Ensuite, la question s'est posée de savoir quelle est la constitution chimique de ces filaments. Les travaux de BRACHET[3], BAUER[4], MULNARD[5], GABE et PRENANT[6] ayant montré que le nucléole dans certaines espèces peut contenir de l'acide désoxyribonucléique, on pouvait se demander si les structures que nous avons observées ne contenaient que des ribonucléoprotéides. Autant que nous avons pu en juger, les nucléoles de nos contrôles sont Feulgen-négatifs. Enfin, nous ne savons pas si ces ressemblances entre filaments nucléolaires et chromosomes sont d'ordre purement morphologique ou, au contraire, s'ils ont une signification fonctionnelle répondant à une localisation d'unités génétiques. L'éclaircissement de ce problème sera réservé à des recherches futures.

W. BERNHARD, F. HAGUENAU et CH. OBERLING

Institut de recherches sur le cancer Gustave-Roussy, Villejuif (Seine), France, le 9 novembre 1951.

Zusammenfassung

Elektronenoptische Untersuchungen von Ultrafeinschnitten der Rattenleber sowie einiger anderer Gewebe dieses Tieres, ferner eines Mammakarzinoms der Maus und der Niere des Menschen haben ergeben, daß der Nukleolus des Zellkerns oft eine besondere Struktur aufweist: Auf genügend dünnen Schnitten (0,2 μ >) erscheint sehr häufig ein Knäuel fadiger Elemente von verschiedener Länge, aber annähernd gleicher Dicke, die für die Gesamtheit des Nukleolus je nach seinem funktionellen Zustand zwischen 90–180 mμ variiert. Die Filamente sind Feulgen-negativ und enthalten demnach die Ribonukleoproteide des Kernkörperchens.

[1] ST. LAGERSTEDT, Acta anat. Suppl. 9 (1949).
[2] P. DROCHMANS, Arch. Biol. *61*, 000 (1950).
[3] JÖRGENSEN (cité d'après HERTWIG, Handbuch Mikr. Anat. Moellendorff, vol. I, page 179).
[4] P. VIGIER, *Le nucléole* (Carré et Naud, Paris 1900). – M. GABE et M. PRENANT, La Cellule *53*, 99 (1949). – H. W. ALTMANN, Z. Naturforsch. *4b*, 138 (1949).
[5] J. A. SERRA et A. QUEIROZ-LOPEZ, Portug. acta biol. *1*, 51 (1945).
[6] R. R. GATES, Bot. Rev. *8*, 337 (1942).

[1] L. ARVY, Arch. Biol. *61*, 187 (1950).
[2] H. W. ALTMANN, Z. Naturforsch. *4b*, 138 (1949).
[3] J. BRACHET, *Embryologie Chimique*, 2e Ed. (Masson, Paris 1947).
[4] H. BAUER (Cité d'après J. PANIJEL: *Métabolisme des nucléoprotéides* [Hermann, Paris 1951]).
[5] J. MULNARD, C. r. Ass. Anatomistes, 36e réunion (Lyon 1949).
[6] M. GABE et M. PRENANT, La Cellule *53*, 99 (1949).

Über die submikroskopische Struktur der Kernmembran bei *Amoeba proteus* [1]

Der Zellkern von *Amoeba proteus* scheint, ähnlich den Zellkernen mehrzelliger Tiere, während der Interphase Stoffe an das Zytoplasma abzugeben[2]. Diese Stoffe haben die Kernmembran zu passieren. Deshalb erschien es uns von Interesse, den submikroskopischen Bau dieser Membran mit dem Elektronenmikroskop zu analysieren. Die Technik war gegeben, da wir bereits in früheren Untersuchungen[3] die Struktur anderer Zellkonstituenten von *Amoeba* elektronenmikroskopisch untersucht hatten: 1. Fixierung der Amöben in verschiedenen Fixierungsflüssigkeiten (Alkohol, Formol, Osmiumsäure, Pikrinsäure, Schwermetallsalze); 2. Isolierung der Kerne mit Glasnadeln unter dem Binokularmikroskop; 3. Mechanische Fragmentierung der Kerne; 4. Transport eines Tropfens der Fragmentsuspension auf die Folie des EM.-Objektträgers.

Callan und Tomlin[4] haben zum ersten Male für die Membran der Ovozytenkerne von *Triturus* und *Xenopus* festgestellt, daß sie eine charakteristische Porenstruktur besitzen. Diese Poren befinden sich in einer gegen das Zytoplasma gelegenen Schicht der Membran, während eine innere Schicht aus einer kontinuierlichen Proteinfolie zu bestehen scheint. In gleicher Richtung wiesen die Befunde von Baud[5] an den Kernen der Rattenleber.

Die Kernmembran von *Amoeba* läßt ähnliche Strukturprinzipien erkennen: es findet sich eine porentragende Schicht und eine kontinuierliche Schicht. Die Membran als Ganzes ist sehr dicht und gibt nur an den Stellen, wo die Poren liegen, ein Transparenzbild. Da aber die kontinuierliche Schicht zart ist und leicht von der derberen und gegen Fixierer sehr resistenten Porenschicht abgetrennt werden kann, ist es möglich, die Porenschicht für sich allein zu untersuchen.

Die *Porenschicht* ist, wie die Abbildungen 1 und 2 zeigen, ein regelmäßig gebautes Gebilde mit Wabenstruktur; der Durchmesser einer einzelnen Wabe oder Pore beträgt auf Grund von rund 500 Einzelmessungen, die an mehreren Photos von verschieden fixierten Präparaten vorgenommen wurden, etwa 1200 Å. Die Dicke der Porenwand beträgt bei Poren, deren Mittelpunkte etwa 1500 Å voneinander entfernt sind, rund 300 Å. Der maximale Porendurchmesser wurde bei 2200 Å, der minimale bei 900 Å gefunden. In den großen Poren traten häufig Septen auf, die das große Lumen in 2, 3 oder 4 sekundäre Poren unterteilten. Diese Sekundärporen hatten ungefähr einen Durchmesser von 400 Å. Beschattete Präparate zeigten, daß die Poren in einen Raum von einiger Tiefe führen. Die Gesamtdicke der Kernmembran dürfte 2000 Å überschreiten, die Tiefe der Porenräume schätzungsweise das Doppelte des Porendurchmessers betragen.

Das hier gegebene Bild der Porenschicht findet sich mit großer Konstanz auch nach recht verschiedenartiger Fixierung (insbesondere auch nach Fixierung in Alkohol oder mit sauren Gemischen). So ist es kaum möglich, ein osmiumfixiertes von einem mit Bouins Gemisch behandelten Fragment zu unterscheiden. Da die lipoidlösenden Fixierer die Struktur der Porenschicht nur wenig verändern, ist zu schließen, daß die Hauptelemente der Porenschicht nicht lipoider Natur sind.

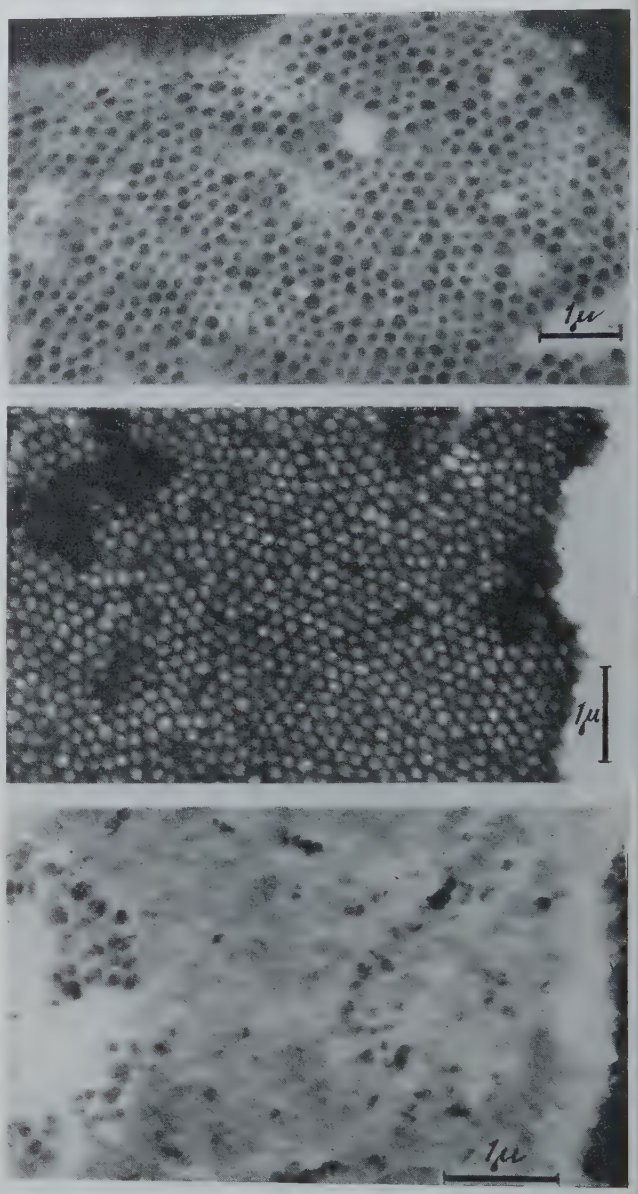


Abb. 1. *Amoeba proteus*. Kernmembran. Elektronenmikroskopische Übersichtsbilder.

A Fixiert in Zenker (Bichromat-Sublimat): Isolierte Porenschicht. Beschattet mit Gold-Manganin.

B Fixiert im Gemisch nach Rabl (Pikrinsäure-Sublimat): Transparenzbild beider Schichten.

C Fixiert wie *B:* Aufsicht auf die kontinuierliche Schicht; wo diese an einigen Stellen fehlt, sind die daruntergelegenen Poren zu sehen. Beschattet.

Die *kontinuierliche Schicht* (Abb. 1*C*, 2*A* und 2*B*) ist viel dünner als die Porenschicht und bietet bei Beschattung ein ähnliches Bild wie das Plasmalemma: sie scheint aus dicht gepackten globulären Partikeln zu bestehen. Wenn die kontinuierliche Schicht der Porenschicht fest aufliegt, sind die Poren nur dort deutlich, wo ein Stück der kontinuierlichen Membran fehlt. Die kontinuierliche Schicht reagiert anders auf Fixierung als die Porenschicht. Sehr gut wird sie in pikrinsäurehaltigen Ge-

[1] Ausgeführt mit Arbeitsbeschaffungsmitteln des Bundes und mit einem Trüb-Täuber-Elektronenmikroskop (EM.) der Abteilung für Elektronenmikroskopie des Chemischen Instituts.

[2] A. Brachet, Exper. *6*, 294 (1950).

[3] A. Bairati und F. E. Lehmann, Rev. suisse Zool. *58*, 445 (1951); Pubbl. Staz. Zool. Napoli, im Druck (1952).

[4] H. Callan und S. Tomlin, Proc. Roy. Soc. B. *137*, 367 (1950).

[5] Ch. Baud, Bull. Histol. Appl. *3*, 41 (1950).

mischen fixiert (Abb. 1*C*); auch nach Osmierung ist sie gut erhalten, löst sich aber bei der weiteren Präparation leicht von der Porenschicht ab. Nach der Fixierung in

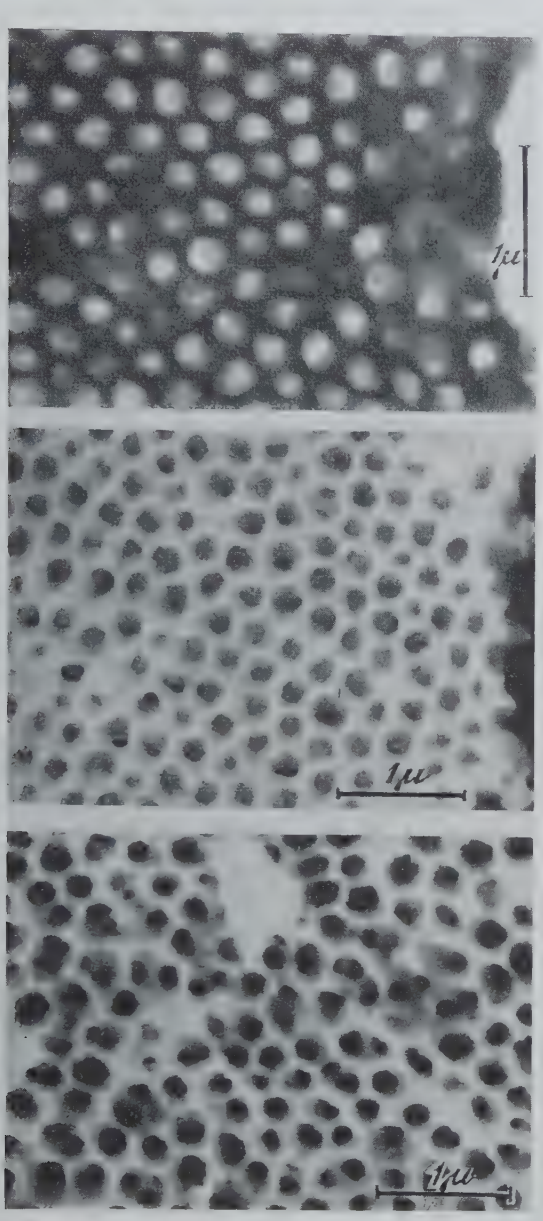


Abb. 2. *Amoeba proteus*. Elektronenmikroskopische Detailbilder der Kernmembran.

A Fixiert in Bouins Gemisch (Formol, Essigsäure, Pikrinsäure). Transparenzbild, das die darunterliegende kontinuierliche Schicht erkennen läßt.
B Dasselbe Präparat wie *A* nach Umkopierung.
C Fixiert in Bouins Gemisch: Stück der Porenschicht allein. Beschattet mit Gold-Manganin.

Zenkers Gemisch und ebenfalls nach Behandlung mit Alkohol verschwindet die Bedeckung der Poren durch die kontinuierliche Membran zum größten Teil, während die Porenstruktur kaum verändert erscheint. Somit ist anzunehmen, daß die kontinuierliche Schicht eine andere chemische Zusammensetzung hat als die Porenschicht.

Es war bis jetzt nicht möglich, zu entscheiden, welche Schicht der Kernmembran dem Zytoplasma zugewandt ist: die Porenschicht (wie im Falle von *Xenopus* und *Triturus* nach Callan und Tomlin) oder die kontinuierliche Schicht. Hier könnte die Untersuchung elektronenmikroskopischer Schnitte weiter führen.

Über den Kerninhalt, der sehr schwer zu fragmentieren ist, können wir nur aussagen, daß in kleineren Fragmenten fädige Retikula auftreten, denen kleinere globuläre Gebilde eingelagert sind. Die Struktur der derberen Fragmente ist nicht erkennbar (Abb. 3).

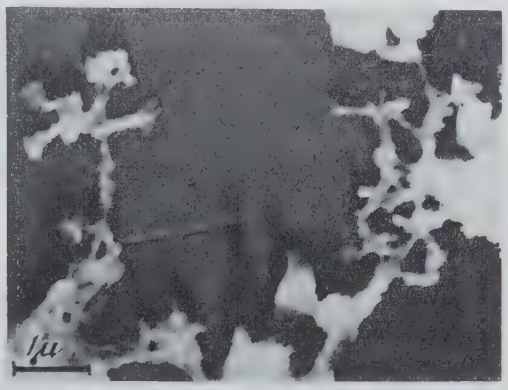


Abb. 3. *Amoeba proteus*. Kerninhalt, fixiert in Zenker (Essigsäure Bichromat, Sublimat).

Vergleichen wir unsere Befunde mit denen von Callan und Tomlin, so finden wir, daß die Poren bei den Ovozyten etwa 300 Å Durchmesser haben und durch eine breite Balkenschicht voneinander getrennt sind, bei der Amöbe dagegen sind die Poren größer, die Balken entsprechend schmäler. Während die Porenschicht bei den Ovozyten lipoidreich sein dürfte, erscheint sie als lipoidarm bei der Amöbe. Umgekehrt ist die kontinuierliche Membran der Amöbe vermutlich lipoidreich, während die kontinuierliche Membran bei den Ovozyten sich lipoidarm verhält. Wir sind uns bewußt, daß Kernstrukturen von systematisch weit auseinanderliegenden Formen nur mit Vorbehalt verglichen werden dürfen. Immerhin erscheint es uns als sehr bemerkenswert, daß wir bei der Amöbe ebenfalls eine zweischichtige Membran nachweisen konnten, die, wie bei den Ovozyten von *Xenopus* und *Triturus*, aus einer Poren- und einer kontinuierlichen Schicht aufgebaut ist. Da es sich bei beiden Formen um sehr große Zellkerne handelt, wäre es möglich, daß die Porenschicht vor allem mechanische Trägerfunktionen besitzt, während die kontinuierliche Schicht die Permeabilität regulieren dürfte.

A. Bairati[1] und F. E. Lehmann

Theodor-Kocher-Institut und Abteilung für Zoophysiologie des Zoologischen Instituts der Universität Bern, den 7. November 1951.

Summary

The nuclear membrane of *Amoeba proteus* appears in electron microscopical preparations to be composed of two layers, one porous containing pores of about 1200Å diameter, the other one representing a continuous membrane of densely packed very small globular particles. The layer containing the pores is in contrast to the continuous layer very resistant to mechanical actions and to different fixing fluids and seems to contain rather few lipoids. The materials from the inner regions of the nucleus are difficult to fragment. Small fragments show filamentous reticula with small globular bodies.

[1] Bari, Istituto di Anatomia, zur Zeit Gast des Theodor-Kocher-Instituts in Bern.

Über Bau und Funktion der Prothoraxdrüse von *Sialis lutaria* L. (Megaloptera)

Im Verlaufe von Untersuchungen über die hormonale Steuerung der Metamorphose der Schlammflorfliege (*Sialis lutaria* L.) wurde im vorderen Abschnitt des Thorax der Larven von *Sialis* ein Organ gefunden, welches mit den bei anderen Insekten beschriebenen Thoraxdrüsen identifiziert werden konnte. Die Drüse ist paarig und liegt je zwischen dem lateralen und ventralen Tracheenhauptstamm des Prothorax. Sie konnte in den untersuchten Larvenstadien 4–10 von *Sialis* nachgewiesen werden. Auch im Puppenstadium ist die mit Methylenblau färbbare Drüse noch gut zu erkennen, während sie in den Imagines degeneriert.

Abb. 1. Toralpräparat einer Drüse der linken Seite. Der Hauptteil des Organs liegt zwischen den beiden Tracheenhauptstämmen, mit welchen es fest verbunden ist. Ein kurzer Ast zieht sich einer Trachee entlang dorsalwärts, ein zweiter, längerer führt kaudalwärts. Alle Drüsenteile werden von vier kleinen Tracheenästchen mit Tracheolen versorgt. Nativpräparat, Methylenblaufärbung, Vergrößerung 60 ×.

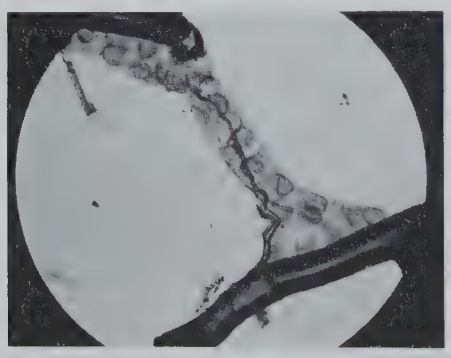


Abb. 2. Detailaufnahme eines Teiles der Thoraxdrüse. Das Organ ist aus relativ wenigen, großen Zellen aufgebaut. Das Zellinnere wird vor allem von den großen chromatinhaltigen Kernen erfüllt Färbung: Delafields Hämatoxylin, Vergrößerung 300 ×.

Morphologische Beschreibungen von Prothoraxdrüsen bei Lepidopteren liegen von Toyama[1], Ke[2] und Lee[3] vor. Fukuda[4] gelang es an der Seidenraupe, Williams[5] am großen Seidenspinner, durch Transplantation der Drüsen experimentell ihre hormonale Funktion als Auslöser bei der Metamorphose nachzuweisen. Neuerdings gelang es, auch bei einigen hemimetabolen Insekten die Funktion der Thoraxdrüsen experimentell zu belegen. Die Thoraxdrüse von *Sialis* weist in bezug auf Lage, Tracheenversorgung, morphologische und zytologische Struktur große Ähnlichkeit mit den bei den Lepidopteren beschriebenen Drüsen auf und muß zweifellos als homologes Organ betrachtet werden. Erste experimentelle Versuche an *Sialis* haben gezeigt, daß diese Prothoraxdrüse in der Tat das Metamorphosehormon hervorbringt. Durch Implantation der Drüsen in abgeschnürte Larvenabdomina konnte das Einsetzen der Metamorphose provoziert werden.

Vor allem ist zu bemerken, daß bei dieser holometabolen Insektenart, welche archaische Merkmale aufweist, die Metamorphose durch die gleichen hormonalen Prozesse gesteuert wird, wie dies bei evoluierten Formen, zum Beispiel bei Schmetterlingen, der Fall ist.

U. Rahm

Zoologische Anstalt der Universität Basel, den 8. November 1951.

Summary

In several larval instars and in pupae of *Sialis lutaria* L. (Megaloptera) a prothoracic gland was found. This gland is paired and lies on both sides in the prothorax between the two principal tracheal trunks. Figure 1 shows the whole left gland. In Figure 2 a part of a gland with the typical big cell nuclei with chromatin granules is shown. Preliminary experimental investigations confirm the hormonal function of this gland provoking metamorphosis.

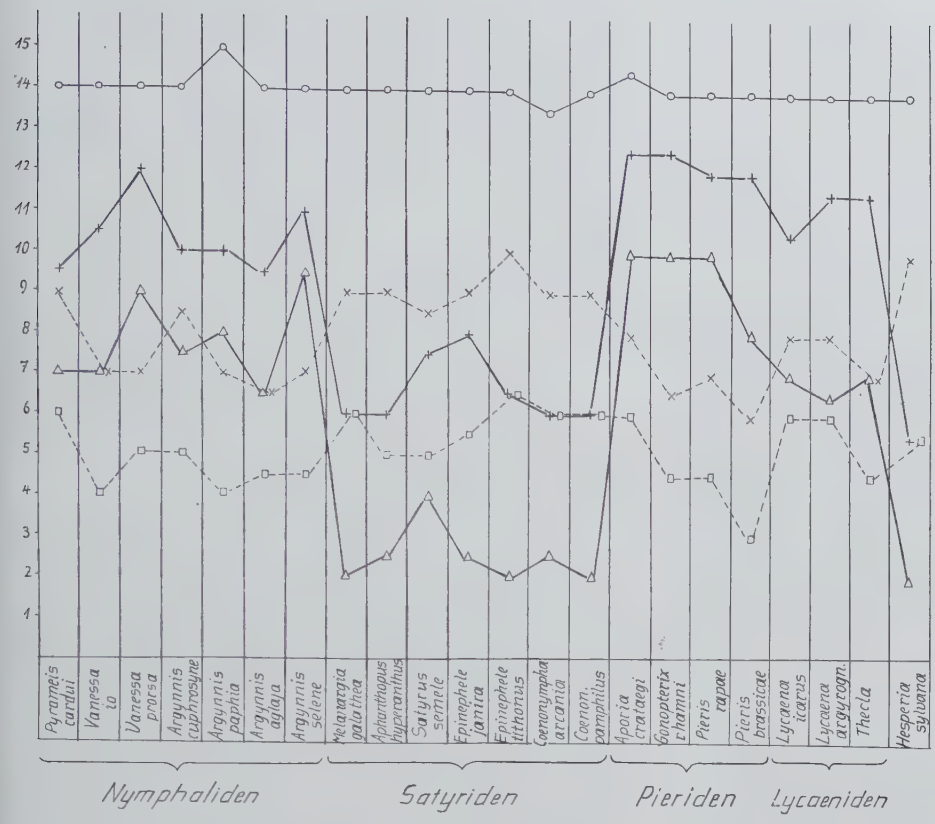
[1] K. Toyama, Bull. Coll. Agric. Tokyo Imp. Univ. *6*, 21 (1903).
[2] O. Ke, Bull. Sci. Fac. Terkultura Kjusu Imp. Univ. *4*, Nr. 1, 12 (1930).
[3] H. T. Lee, Ann. Ent. Soc. Amer. *41*, 200 (1948).
[4] S. Fukuda, Proc. Imp. Acad. Tokyo *16*, Nr. 8, 414 (1940).
[5] C. M. Williams, Growth Symposium *12*, 61 (1948).

Neue Beobachtungen über den Farbensinn der Insekten

Unser Wissen vom Farbensinn der Insekten ist trotz zahlreicher Arbeiten, die auf diesem Gebiet in den letzten vierzig Jahren gemacht worden sind, nicht weiter gediehen als bis zu der Erkenntnis, daß die meisten Insekten Farben zu unterscheiden vermögen, daß die Grenze des sichtbaren Spektrums für sie etwas anders liegt als für den Menschen und daß nur eine geringe Zahl von Farbqualitäten – nicht alle Spektralfarben – vom Insekt wahrgenommen werden. Von der Theorie des Farbensinns der Insekten wissen wir praktisch noch gar nichts. Die folgende Mitteilung stellt den ersten Versuch dar, zu beweisen, daß auch für das Insektenauge die Young-Helmholtzsche Dreifarbenlehre im Prinzip gültig ist.

Als Versuchsobjekte dienten Tagschmetterlinge, deren hochentwickelter Farbensinn in zahlreichen anderen Untersuchungen festgestellt worden ist und als bekannt vorausgesetzt wird. Die Tiere wurden in einer optomotorischen Trommel geprüft. Die langen Fühler des im Zentrum der Trommel mit einer Pinzette an den Flügeln festgehaltenen Falters geben bei Drehung der Trommel auch bei kleinen Kopfbewegungen große Ausschläge, die sich quantitativ bestimmen lassen.

Es wurde der Helligkeitswert der einzelnen Farben gemessen. Hierzu wurde in der Trommel, in der graue und farbige Papierstreifen abwechselten, festgestellt, bei welchem Grau der Falter die kleinsten Ausschläge zeigte. Für dieses Grau wurde dann angenommen, daß es dem Falter gleichhell erscheint wie das geprüfte Pigmentpapier. Nach dieser Methode wurden zahlreiche Arten geprüft und miteinander verglichen. Die gefundenen Helligkeitswerte differieren, was übrigens schon bekannt war, sehr stark.



Ordinate Helligkeitswerte der einzelnen Farbpapiere

15 = Weiß,
1 = Schwarz,
o = Gelb,
+ = Orange,
▵ = Rot,
x = Grün,
▫ = Blau.

In der Abszisse sind die untersuchten Arten aufgetragen.

Etwas Neues ergibt sich jedoch, wenn man zahlreiche Arten miteinander vergleicht und die Ergebnisse graphisch zur Darstellung bringt (siehe Abb.). Es zeigt sich dann, daß die Helligkeitswerte gewisser Farben voneinander abhängig sind, die anderer Farben dagegen nicht. So ist Orange deutlich abhängig von Rot, das heißt, wenn Rot hell gesehen wird, wird auch Orange hell gesehen, wenn dagegen Rot einer Art sehr dunkel erscheint, sieht sie auch Orange dunkel. Die Kurven für Rot und Orange laufen daher einander einigermaßen parallel. Eine ähnliche Abhängigkeit besteht auch zwischen Blau und Grün. Dagegen sind drei Farbgruppen voneinander völlig unabhängig, wie der Verlauf der Kurven zeigt, nämlich Gelb, Blau-Grün und Rot-Orange.

Tabelle

	Gelb	Orange	Rot	Grün	Blau
Pieriden					
Gonopterix rhamni .	14	12–13	10	6–7	4–5
Aporia crataegi . .	14–15	12–13	10	8	6
Pieris rapae	14	12	10	7	4–5
Pieris brassicae . .	14	12	8	6	3

	Gelb	Grün	Orange	Blau	Rot
Satyriden					
Coenon. arcania . .	13–14	9	6	6	2–3
Coenon pamphilus. .	14	9	6	6	2
Epineph. tithonus. .	14	10	6–7	6–7	2
Epineph. janira . .	14	9	8	5–6	2–3
Aphanthopus hyper.	14	9	6	5	2–3
Melanargia galathea.	14	9	6	6	2

Die Abhängigkeit verschiedener Farben läßt sich wohl am leichtesten so deuten, daß sie von dem gleichen Rezeptor wahrgenommen werden, wobei der Helligkeitswert vielleicht die Empfindlichkeit dieses Rezeptors widerspiegelt. Die Unabhängigkeit der drei Farbgruppen Gelb, Blau-Grün, Rot-Orange läßt dagegen vermuten, daß sie durch verschiedene Rezeptoren wahrgenommen werden. Ob diese drei Gruppen die einzigen sind, wissen wir noch nicht. Violett und Ultraviolett konnten noch nicht geprüft werden. Die Untersuchungen werden mit reinen Spektrallichtern fortgesetzt.

Ein weiteres bemerkenswertes Resultat ist, daß die Reihenfolge der Helligkeitswerte der geprüften Farbpapiere innerhalb einer Familie, zum Beispiel der Pieriden, genau so konstant ist wie ein morphologisches Merkmal. Dies zeigt die beifolgende Tabelle, bei der die Helligkeitswerte der geprüften Farben in Zahlen angegeben sind. Es bedeutet 15 so hell wie Weiß, 1 so dunkel wie Schwarz.

W. v. Buddenbrock und I. Moller-Racke

Zoologisches Institut der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz, den 15. August 1951.

Summary

The degree of luminosity of the following pigmented (Ostwald) papers; orange, yellow, green and blue, has been determined for certain Rhopalocera by means of the optomotor reaction.

The comparison of numerous species of butterflies has yielded the following results: where as the luminosity values for yellow, red and blue vary independently of each other, those for green and blue, as well as for orange and red, always vary in the same direction. Therefore it seems possible, that three groups of colours: yellow, green-blue, orange-red, are perceived by different perceptors.

In each family the order of the degree of brightness of the tested pigment colours is constant.

Recherches sur le système phosphatasique des glandes séricigènes chez le ver à soie (*Bombyx mori* L.)

Selon l'hypothèse de Brachet et de Caspersson, les acides nucléiques joueraient un rôle dans la synthèse des protéines. Des recherches plus récentes ont démontré que l'acide ribonucléique cytoplasmique se localise principalement sur des granules ultra-centrifugeables (microsomes); il a été établi, en outre, que ces microsomes contiennent aussi des enzymes, notamment des phosphatases.

Dans une note précédente[1], une étude quantitative de la teneur en acide ribonucléique des tubes séricigènes du ver à soie a révélé d'importantes différences suivant la partie de la glande que l'on considère.

En raison de ces constatations et des observations de Bradfield[2], indiquant que les glandes séricigènes donnent une intense réaction cytochimique de la phosphatase alcaline, il nous a paru utile d'étendre nos investigations à cet enzyme; cette extension se justifiait d'autant plus que Bradfield a émis l'hypothèse que la phosphatase servirait à séparer l'acide nucléique et la protéine du complexe ribonucléoprotéique.

1° *Phosphomonoestérases*

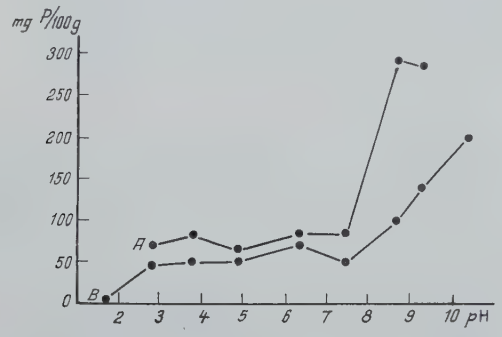


Fig. 1. – Extraits de vers broyés.

A *Bombyx mori* L., var. Blanc Andrinople, 2e âge. Durée de l'autolyse et de l'extraction: 3 jours. Durée de l'incubation: 1 h à 39°C.

B *Bombyx mori* L., var. Indigène jaune, 2e âge. Durée de l'autolyse et de l'extraction: 2 jours et demi. Durée de l'incubation: 1 h à 37°C.

Dans une première série d'expériences, l'activité phosphatasique a été suivie sur des extraits de vers broyés. Une deuxième série de dosages a été effectuée sur des glandes isolées et broyées. Pour l'extraction de l'enzyme et le dosage du phosphate libéré par l'enzyme, nous avons suivi la méthode de Neumann[3]. Nous nous sommes intéressé spécialement à la détermination de l'optimum de pH. Une gamme de pH entre 2,80 et 10,15 a été utilisée; le pH était vérifié avant chaque expérience (dans une proportion de 5 parties mélange tampon pour 1 partie d'extrait enzymatique) à l'aide d'un pH-mètre Beckmann. Comme substrat, nous avons utilisé le glycérophosphate de soude pour les phosphomonoestérases, et le pyrophosphate de soude pour les pyrophosphatases.

Il résulte de l'examen des figures 1 et 2 que les extraits de tubes séricigènes contiennent une phosphatase avec un maximum d'activité prononcé à 4,2–5,0 et un faible maximum du côté alcalin, à pH 7,5–8,5. Les glandes séricigènes se distinguent donc surtout par la présence d'une phosphatase acide. Cette constatation a été confirmée par l'emploi du fluorure de sodium M/100, qui cause une inhibition de 72%, à pH 5,2. Au même pH, le cyanure de potassium M/100 n'a influencé la réaction enzymatique que d'une façon minime. Dans le cas des extraits d'animaux entiers, le cyanure de potassium M/100 a exercé une inhibition de 54% à pH 9,83, tandis qu'à pH 4,93 aucune modification de l'activité enzymatique ne s'est manifestée.

2° *Pyrophosphatases*

P libéré (en mg/100 g de tissu glandulaire)		
pH	sans $MgSO_4$	en présence de $MgSO_4$ M/100
7,96	80,5	valeur supérieure à 80,5 pas mesurable au colorimètre
	Même extrait après 4 jours:	
7,96	11,6	276,5

Les glandes séricigènes contiennent donc une pyrophosphatase alcaline très sensible à la présence d'ions Mg. Nous nous proposons de poursuivre, dans un proche avenir, l'étude de cet enzyme et d'étudier sa répartition dans les parties sécrétrices et le réservoir de la glande.

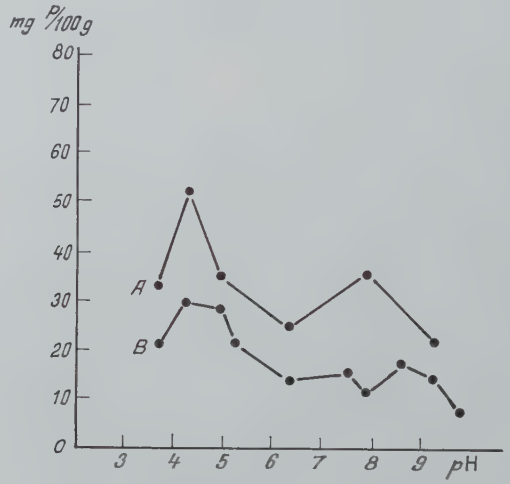


Fig. 2. – Extraits de glandes séricigènes broyées.

A *Bombyx mori* L., var. Chinois doré, début 5e âge. Durée de l'autolyse et de l'extraction: 2 jours et demi. Durée de l'incubation: 1 h à 37°C.

B *Bombyx mori* L., var. Indigène jaune, fin 5e âge. Durée de l'autolyse et de l'extraction: 3 jours. Durée de l'incubation: 1 h à 37°C.

En conclusion, cette étude préliminaire nous apprend que:

1° Les glandes séricigènes contiennent une phosphomonoestérase acide à pH optimum 4,2–5,0. Une phosphatase alcaline à pH optimum 7,5–8,5 ne montre qu'une faible activité. Au contraire, cet enzyme apparaît très actif dans les extraits des vers entiers broyés; d'ailleurs cet enzyme semble être localisé dans l'intestin des vers. Drilhon et Busnel[1] ont pu démontrer la présence, dans l'intestin des insectes, d'une phosphatase alcaline dont l'optimum se situe à pH 8,6–9.

2° Les mêmes glandes contiennent une pyrophosphatase alcaline, fortement activable par le sulfate de Mg.

[1] J. M. Denucé, Biochim. biophys. Acta (sous presse).

[2] J. R. G. Bradfield, Biol. Rev. *25*, 113 (1951).

[3] H. Neumann, *Onderzoekingen over phosphomonoesterasen en pyrophosphatasen van het dierlijk organisme*. Thèse (Amsterdam 1948).

[1] A. Drilhon et R.-G. Busnel, Bull. Soc. Chim. Biol. *17*, 415 (1945).

Ces recherches font partie d'un travail subsidié par l'Institut pour l'encouragement de la Recherche scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture I.R.S.I.A. (bourse de spécialisation).

J. M. Denucé

Laboratoire de morphologie animale, Université Libre de Bruxelles, le 31 octobre 1951.

Summary

Silk glands of *Bombyx mori* contain an acid phosphomonoesterase with optimal activity at pH 4,2–5,0. An alkaline pyrophosphatase was found to be active at pH 7,96.

Prolongation of Clotting Time in Hibernation

One of the authors, Suomalainen, has long been aware of the slow rate of blood coagulation in the hibernating hedgehog. Sometimes the clotting takes several days. Therefore, the clotting time of the blood was determined in different physiological conditions in the hedgehog, using the glass capillary method. Blood samples were taken from normal hedgehogs in the latter half of September and in October. The period of hibernation actually began at the end of November. The hibernating animals were examined in December and January. Their body temperature varied between + 6·6° and 10·8°C.

The hedgehog is also brought into artificial hibernation by injecting insulin into it and keeping the animal in the cold (Suomalainen[1]). In this investigation artificial hibernation was induced in late October. The body temperature of the hedgehogs in artificial hibernation varied between + 7·2° and 11·5°C.

Hedgehogs that had been awakened from hibernation were examined in the latter half of January. The animals were awakened by bringing them from the cold to room temperature. The blood samples were taken some 24 hours after awakening.

The mean blood clotting times are shown in Table I.

Table I

The mean blood clotting time in the hedgehog

	+ 10°C	+ 20°C	+ 36°C
Normal hedgehog . .	5′ 10″	3′ 15″	2′ 25″
Hibernating hedgehog	10′ 50″	6′ 35″	4′ 15″
Artificial hibernation .	7′ 10″	4′ 50″	2′ 55″
Woken from hibernation	6′ 10″	4′ 10″	2′ 45″

As is seen from the Table, the blood clotting time is markedly prolonged during hibernation. In artificial hibernation it is also prolonged; in animals that have been awakened from hibernation it is, on the other hand, nearer to the normal values.

In seeking causes for these variations we have taken account of the variation in numbers of the heparin-secreting heparinocytes, or Ehrlich's mast cells, in hedgehogs at different times of the year. As appears from the communication previously published in this periodical (Suomalainen and Härmä[2], cf. also Härmä and Suomalainen[1]), the number of heparinocytes is great in the small intestine of the hedgehog and in the lungs round the bronchioles (Table II).

Table II

Relative heparinocyte content of the small intestine and bronchioles in the hedgehog. Each figure represents the mean of three hundred unit areas.

	Small intestine	Bronchioles
Normal hedgehog	4·8	30·5
Hibernating hedgehog . .	18·1	79·3
Woken from hibernation .	11·0	72·1

The Tables show that both the blood clotting time and the number of heparinocytes have increased during hibernation. On the basis of these observations and the histological picture of the heparinocytes it seems justifiable to assume that increased heparin secretion is one cause of the prolongation of the clotting time during hibernation.

The retardation of the clotting time is a marked adaptation to the dormant state. The heart beat in hibernation is slow and weak, with the result that the circulation of the blood is retarded (Suomalainen and Sarajas[2]). Therefore the danger of thrombosis is great in hibernation. In an active state, on the other hand, the blood must coagulate rapidly, in order to prevent too great a loss of blood from any wounds.

It is interesting that Svihla, Bowman and Ritenour[3] have recently observed a corresponding prolongation of blood clotting time in two American ground squirrels (*Citellus*) during summer dormancy.

A more detailed account of these investigations will be published in the periodical Archivum Societatis Zoologicae Botanicae Fennicae «Vanamo».

P. Suomalainen and Eila Lehto

Zoological Laboratory, Helsinki University, Helsinki, Finland, November 22, 1951.

Zusammenfassung

Das Blut eines winterschlafenden Igels gerinnt viel langsamer als das eines Sommerigels. Eine Ursache hierfür ist die gesteigerte Heparinsekretion während des Winterschlafes. Die Verlängerung der Gerinnungszeit ist eine bemerkenswerte Anpassung an den Lethargiezustand. Da die Herztätigkeit im Winterschlaf stark herabgesetzt und der Blutkreislauf verlangsamt ist, ist die Gefahr für Thrombosen im Winterschlaf groß.

[1] P. Suomalainen, Ann. Acad. Sci. Fenn. A *53*, 7 (1939).
[2] P. Suomalainen and R. Härmä, Exper. *7*, 380 (1951).
[1] R. Härmä and P. Suomalainen, Acta physiol. Scand. *24*, 90 (1951).
[2] P. Suomalainen and S. Sarajas, Ann. Zool. Soc. «Vanamo» *14*, 2 (1951); Nature, *168*, 211 (1951).
[3] A. Svihla, H. R. Bowman, and R. Ritenour, Science *114*, 298 (1951).

Über zwei neue Akarizide aus der Gruppe der Di-(*p*-chlorphenyl)-karbinole

Wie die bisherigen Versuche und Erfahrungen im Pflanzenschutz gezeigt haben, weist Dichlordiphenyltrichloräthan keine akariziden Eigenschaften auf; im

Tabelle I

Produkt	Konzentration in % Aktivsubstanz	Prozent abgetötete Stadien nach 24 Stunden B	24 Stunden R	24 Stunden E	3 Tagen B	3 Tagen R	3 Tagen E	6 Tagen B	6 Tagen R	6 Tagen E
G 23645	0,1	100	0	0	100	35	15	100	100	100
	0,05	100	0	0	100	46	29	100	100	100
	0,01	100	0	0	100	42	19	100	100	100
G 23992	0,1	100	0	0	100	37	32	100	100	100
	0,05	100	0	0	100	20	16	100	100	100
	0,01	100	0	0	100	25	23	100	100	98
Methyl-di-(*p*-chlorphenyl)-karbinol	0,1	100	0	0	100	36	24	100	100	100
	0,05	100	0	0	100	42	21	100	100	100
	0,01	100	0	0	100	32	20	100	100	99

Tabelle II

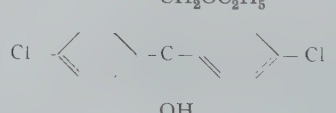
Produkt	Konzentration in % Aktivsubstanz	Anzahl überlebende Stadien von 20♀♀ nach 24 Stunden bei der Infektion nach 7 Tagen B	7 Tagen R	7 Tagen E	8 Tagen B	8 Tagen R	8 Tagen E	9 Tagen B	9 Tagen R	9 Tagen E	10 Tagen B	10 Tagen R	10 Tagen E
G 23645	0,02	3	0	9	6	0	14	11	0	26	18	0	41
	0,05	0	0	2	3	0	1	5	0	12	9	0	24
G 23992	0,02	5	0	10	8	0	16	10	0	30	19	0	46
	0,05	0	0	1	2	0	1	9	0	11	10	0	21
Methyl-di-(*p*-chlorphenyl)-karbinol	0,02	9	0	15	12	0	24	18	0	42	20	0	58
	0,05	1	0	9	3	0	3	8	0	10	12	0	20
		Anzahl überlebende Stadien von 20♀♀ nach 5 Tagen											
G 23645	0,02	0	0	8	2	0	21	4	0	34	9	0	52
	0,05	0	0	1	0	0	1	0	0	12	0	0	28
G 23992	0,02	0	0	10	1	0	24	4	0	42	11	0	68
	0,05	0	0	2	0	0	1	0	0	18	0	0	25
Methyl-di-(*p*-chlorphenyl)-karbinol	0,02	3	0	25	9	0	41	10	0	63	16	0	74
	0,05	0	0	4	0	0	3	0	0	20	2	0	34

B = bewegliche Stadien (Larven, Protonymphen, Deutonymphen, Adulte). — R = Ruhestadien, (*Nymphochrysalis*, *Deutochrysalis*, *Teleiochrysalis*). — E = Eier.

Gegenteil lassen verschiedene Beobachtungen vermuten, daß bei den Spinnmilben durch die Behandlung mit DDT-Produkten eine physiologisch bedingte Beschleunigung der Eibildung und -ablage eintritt[1]. Um so interessanter war deshalb die Feststellung, daß chemisch sehr nahe verwandte Körper eine sehr gute, zum Teil praktisch fast selektive akarizide Wirkung haben können[2].

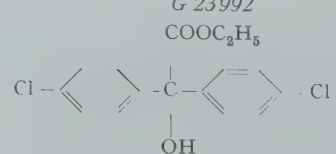
Im Rahmen der Forschungsarbeiten über Akarizide gelang es, aus dieser Gruppe zwei weitere Substanzen mit bemerkenswerter akarizider Wirkung zu synthetisieren. Es handelt sich um die Präparate G 23645 und G 23992 von folgender Konstitution:

G 23645



1-Äthoxymethyl-1,1-di-(*p*-chlorphenyl)-karbinol[1]

G 23992



4,4′-Dichlorbenzilsäure-äthylester[1]

G 23645 bildet weiße Kristalle; F 58–59°; $Kp_{0,06}$ 155 bis 157°. G 23992 stellt eine schwach gelbliche, ölige

[1] R. Gasser, Mitt. Schweiz. Entomol. Ges. *24*, 217 (1951). – H. Grob, Mitt. Schweiz. Entomol. Ges. *24*, 263 (1951).

[2] T. Armstrong, Canad. Entomol. *82*, 73 (1950). – J. C. Gaines, E. E. Ivy, H. A. Dean und A. L. Scales, J. Econ. Entomol. *43*, 614 (1950). – S. E. Lienk und P. J. Chapman, J. Econ. Entomol. *44*, 301 (1951). – R. L. Metcalf, J. Econ. Entomol. *41*, 875 (1948); *The Mode of Action of Organic Insecticides* (National Research Council, Washington, D.C. 1948). – R. G. Rosenstiel, J. Econ. Entomol. *43*, 949 (1950).

[1] Diese Substanzen wurden von Dr. F. Häfliger synthetisiert; das Verfahren zu ihrer Herstellung bzw. ihrer Anwendung zur Schädlingsbekämpfung wurde zum Patent angemeldet.

Substanz dar; $Kp_{0,06}$ 141–142°. Beide Substanzen sind in den üblichen organischen Lösungsmitteln leicht löslich.

Die akute perorale *Toxizität* (DL 50) beträgt an Mäusen für G 23645 > 5000 mg/kg Körpergewicht, für G 23992 4850 mg/kg; an Ratten > 5000 mg/kg für G 23645 und 3100 mg/kg für G 23992[1].

Die biologische Prüfung der Akarizide im Laboratorium wurde an *Tetranychus urticae* Koch auf Bohnen durchgeführt[2].

Als Vergleichsprodukt diente das ebenfalls in diese Gruppe gehörende, technisch bis heute schwer zugängliche Methyl-di-(*p*-chlorphenyl)-karbinol[3]. Bei direkter Behandlung der verschiedenen Stadien auf Bohnenblättern mit Emulsionen dieser Präparate konnte folgender Abtötungsverlauf festgestellt werden (Tab. I).

Die beiden Präparate haben eine gute Direktwirkung auf alle Stadien und zeigen sich dem Vergleichsprodukt ebenbürtig.

Zur Prüfung der Dauerwirkung infizierten wir, in Abständen von einem Tag, behandelte Bohnenblätter mit je 20 weiblichen Adulten und kontrollierten den Infektionserfolg nach 1 und 5 Tagen, wie Tabelle II zeigt.

Während bei beiden Präparaten die Infektionen vom 1. bis zum 6. Tag nicht angehen, kommt es vom 7. Tag an zu Eiablagen. Die Dauerwirkung beider Präparate ist ungefähr gleich und dem Vergleichsmittel besonders in der geringeren Konzentration überlegen.

Die im Laboratorium an *Tetranychus urticae* erhaltenen günstigen Resultate konnten in den Freilandversuchen im Sommer 1951 sowohl an *Tetranychus urticae* wie an *Metatetranychus ulmi* Koch bestätigt werden. Die Wirkung erfolgt nur durch Kontakt; die beiden Präparate haben weder Gas- noch eine innertherapeutische Wirkung.

Sowohl die Insektizid-Teste im Laboratorium wie die Freilandversuche zeigten, daß beide Substanzen praktisch keine insektizide Wirkung haben, sodaß die Nützlingsfauna geschont wird. Ebenso konnte keine fungizide Wirkung nachgewiesen werden. R. Gasser

Aus den Forschungslaboratorien für Schädlingsbekämpfung der J. R. Geigy AG., Basel, den 14. November 1951.

Summary

The 2 compounds ethoxymethyl-di-(*p*-chlorophenyl)-carbinol and 4,4′-dichlorobenzilicacid-ethylester were tested in the laboratory against *Tetranychus urticae* and in field trials against *Metatetranychus ulmi* and *Tetranychus urticae*. Both compounds are selective acaricides, which show a contact action against all stages of development of red spiders and which also have a residual action.

[1] Die Toxizitätsbestimmungen wurden von Herrn Prof. Dr. R. Domenjoz, Pharmakologische Abt. der J. R. Geigy AG., durchgeführt.

[2] Über Morphologie und Biologie der roten Spinnen, zum Beispiel *Tetranychus urticae*, vgl. die unter Anmerkung 1 angeführte Literatur.

[3] 1-Methyl-1,1-di-(*p*-chlorphenyl)-karbinol = Dimite von *Sherwin-Williams Co., USA*.

Vergleichende Untersuchungen von ganglionärblockierenden Substanzen, von Sympathikolytika und von Parasympathikolytika bei experimenteller Lungenembolie

Intravenös injizierte Fremdkörper werden durch den Blutstrom in die Lungen getragen, wo sie entsprechend ihrer Größe in engeren oder weiteren Lungengefäßen steckenbleiben und bei verschiedenen Tierarten eine meist sehr ausgeprägte Tachypnöe verursachen. Es wird angenommen, daß diese Änderung des Atemtypus durch eine Erregung von Rezeptoren verursacht wird, die in der Lunge gelegen sind. Die zugehörigen afferenten, wahrscheinlich relativ markarmen Fasern verlaufen im Lungenvagus; sie konnten jedoch bisher nicht mit Sicherheit identifiziert werden (Literatur siehe Whitteridge[1], und Samaan und Wilson[2]). Eine Erregung der sogenannten Lungendehnungsrezeptoren wurde ausgeschlossen (Walsh und Whitteridge[3]). Nach klinischen Untersuchungen von Schneider[4] besitzt das Pendiomid bei akuten Lungenembolien eine therapeutisch günstige Wirkung.

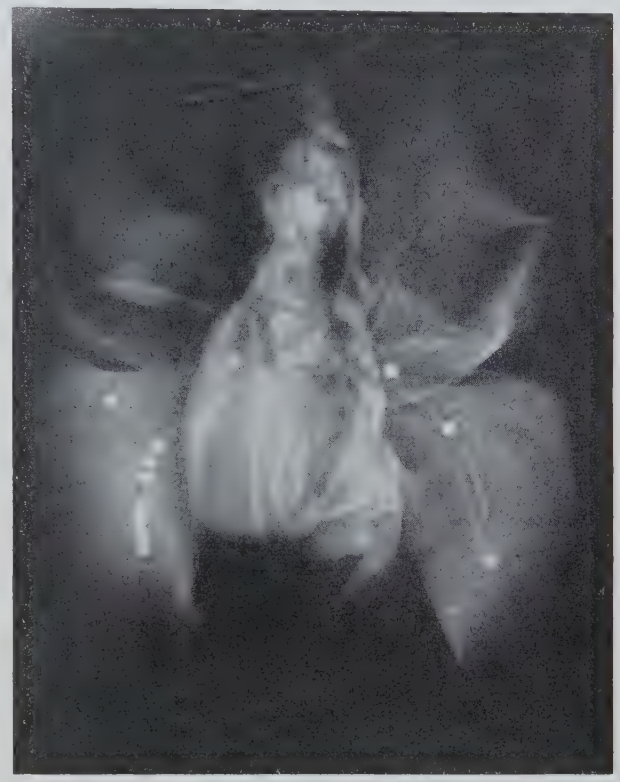


Abb. 1. Röntgenaufnahme eines Herz-Lungen-Präparates einer Katze, die die Lage der Glasperlen in den relativ großen Lungenarterien und ihre – von Versuch zu Versuch wechselnde – Verteilung zeigt.

Es schien uns deshalb von Interesse, zu untersuchen, wie sich der Embolieatemtypus durch Pharmaka, die auf das vegetative Nervensystem wirken, experimentell beeinflussen läßt, in erster Linie durch ganglionär blockierende Substanzen. Das dieser Gruppe zugehörige Pendiomid (N,N,N′,N′,-3-Penta-methyl-N,N′-diäthyl-3-aza-pentylen-(1,5)-diammonium-dibromid) hemmt Hustenstöße, die durch Reizen der Trachea ausgelöst werden (Bein und Meier[5]), und blockiert bestimmte afferente, und zwar relativ markarme Leitungsbahnen im Darmgebiet, während die Aktivität von Lungen- und Darmdehnungsrezeptoren mit stark markhaltigen Nervenfasern nicht beeinflußt wird (Bein[6]).

[1] D. Whitteridge, Physiol. Rev. *30*, 475 (1950).

[2] A. Samaan und W. H. Wilson, Arch. int. pharmacodyn. *86*, 292 (1951).

[3] E. G. Walsh und D. Whitteridge, J. Physiol. *103*, 37 P (1944/45).

[4] J. Schneider, Helv. Chirurg. acta *18*, 370 (1951).

[5] H. J. Bein und R. Meier, Schweiz. med. Wschr. *81*, 446 (1951).

[6] H. J. Bein, Helv. physiol. acta *9*, C_{15} (1951).

Die Versuche wurden an wenig tief narkotisierten Katzen (Dial 15 mg/kg i.p. und 15 mg/kg s.c.) und an einzelnen Kaninchen (Urethan 700 mg/kg s.c.) durchgeführt. Als Emboli wurden Glasperlen mit einem Durchmesser von rund 1,25 mm verwendet, die in eine *Vena jugularis externa* oder in eine *Vena iliaca* injiziert wurden (siehe Abb. 1). Die Atembewegungen wurden von der Trachea auf eine Marey-Kapsel, der arterielle Mitteldruck von der rechten *Carotis communis* auf ein Quecksilbermanometer mit Schwimmschreiber übertragen und die Pulsfrequenz mit einem von Gross und Häfelfinger[1] angegebenen Frequenzschreiber registriert.

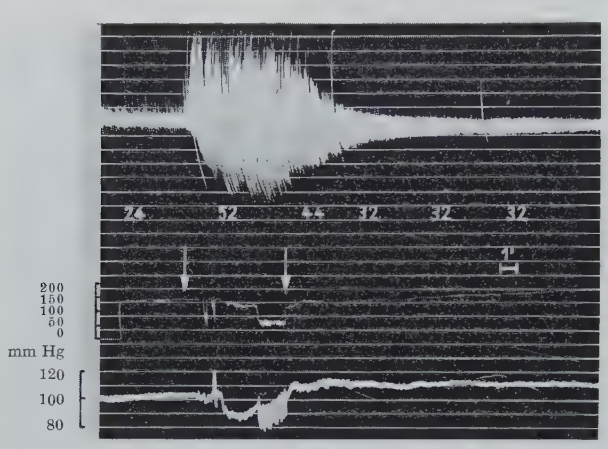


Abb. 2. *Katze.* Wirkung von 0,5 mg/kg Pendiomid, i.v. injiziert, (2. Pfeil) nach intravenöser Gabe von 9 Glasperlen (1. Pfeil). *Von oben nach unten:* 1. Atmung (die Zahlen geben die Atemfrequenz/Minute an). 2. Pulsfrequenz. 3. Arterieller Mitteldruck. Die starke Vergrößerung der Atemschreibung nach eingetretener Embolie ist wegen Registrierung mit einer druckempfindlichen Mareyschen Kapsel nicht so sehr Ausdruck eines vergrößerten Atemzugvolumens als einer krampfartigen, stoßweisen Atmung.

Nach der intravenösen Injektion der Glasperlen tritt eine Tachypnöe auf, die in einzelnen Versuchen über Stunden andauern und mit meist starkem Stridor einhergehen kann. Außerdem wurden in der Mehrzahl unserer Versuche Störungen des großen Kreislaufes, Extrasystolen und eine oft ausgeprägte Bradykardie beobachtet. Nach relativ kleinen Dosen Pendiomid, 0,5 mg/kg i.v. (annähernd 1/200 der intravenösen Letaldosis) weicht die «Embolieatmung» dem vorher bestandenen Atemtypus; die Schlagfrequenz und die Schlagfolge des Herzens werden wieder normalisiert (Abb. 2 und 3). Die kurative Wirkung einer solchen intravenösen Gabe von Pendiomid hält über Stunden an; vor Ablauf von 1½ bis 2 Stunden lassen sich durch weitere Embolien die beschriebenen Störungen der Atmung und des Kreislaufes nicht mehr auslösen.

Sympathikolytika dagegen, zum Beispiel das «DHE 45», das «Hydergin» (bis 1 mg/kg i.v.), das Priscol und das Regitin[1] (bis 3 mg/kg i.v.), wie auch Parasympathikolytika, zum Beispiel das Atropin (bis 3 mg/kg i.v.) erwiesen sich in der gleichen Versuchsanordnung als unwirksam. Novocain, das intravenös in relativ hohen Dosen sensible Rezeptoren lähmt (siehe dazu: Bein[2]), besitzt in Dosen von 7–10 mg/kg lediglich eine kurzdauernde und relativ geringe Wirkung auf die Tachypnöe (Abb. 4).

Da das Pendiomid die Funktion des efferenten Sympathicus und Parasympathicus unterdrückt, indem es die Reizübertragung in den ganglionären Synapsen beider Systeme hemmt, wurden ferner Kombinationen von Atropin mit sympathikolytisch wirksamen Verbindungen geprüft, ohne daß jedoch eine dem Pendiomid entsprechende Wirkung eintrat.

Andere ganglionär blockierende Verbindungen von chemisch ebenfalls quaternärem Charakter, zum Beispiel das Hexamethonium (Paton und Zaimis[3]) und das Tetraäthylammoniumbromid (Acheson und Moe[4]) waren auch in hohen Dosen (10 mg bzw. 20 mg) überraschenderweise nicht so wirksam wie das Pendiomid (Abb. 5). Von Marxer und Miescher[5] hergestellte chemische Analoge des Pendiomid zeigten, wie an anderer Stelle berichtet werden soll, eine unterschiedliche Wirkung. Die Wirkung des Pendiomid beruht somit nicht nur auf seinem allgemeinen pharmakologischen Wirkungscharakter als ganglionär blockierende Verbindung – obwohl dies möglicherweise eine der Voraussetzungen für eine entsprechende Wirkung ist –, sondern auf einer besonderen chemischen Struktur.

[1] F. Gross und Ch. Häfelfinger, Helv. physiol. acta *9*, C$_6$ (1951).

[1] F. Gross, J. Tripod und R. Meier, Schweiz. med. Wschr. *81*, 352 (1951).

[2] H. J. Bein, Helv. physiol. acta *9*, C$_{15}$ (1951).

[3] W. D. M. Paton und E. J. Zaimis, Brit. J. Pharmacol. *4*, 381 (1949).

[4] G. H. Acheson und G. K. Moe, J. Pharmacol. *87*, 220 (1946).

[5] A. Marxer und K. Miescher, Helv. chim. acta *34*, 924 (1951).

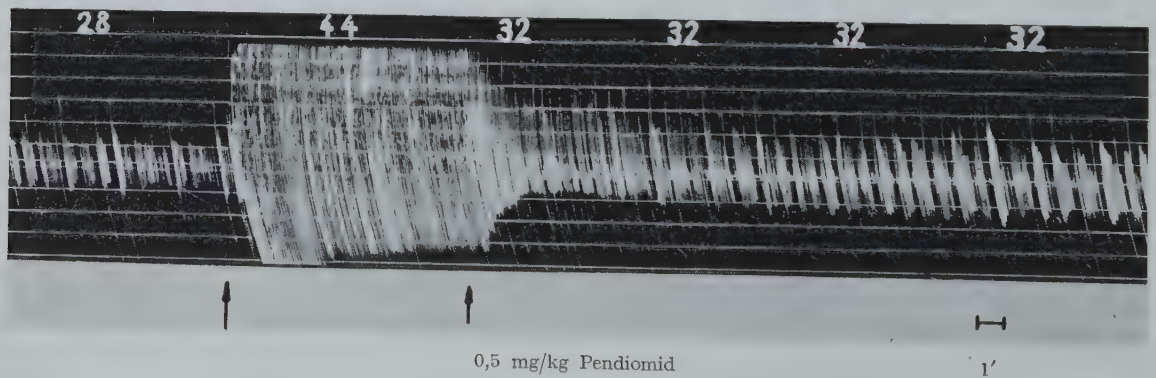


Abb. 3. *Katze.* Siehe Legende zu Abbildung 2.
Das Pendiomid (0,5 mg/kg i.v.) beeinflußt nur die «Embolieatmung»; der vor der Embolie bestandene Cheyne-Stokes-Atemtypus wird nicht beeinträchtigt.

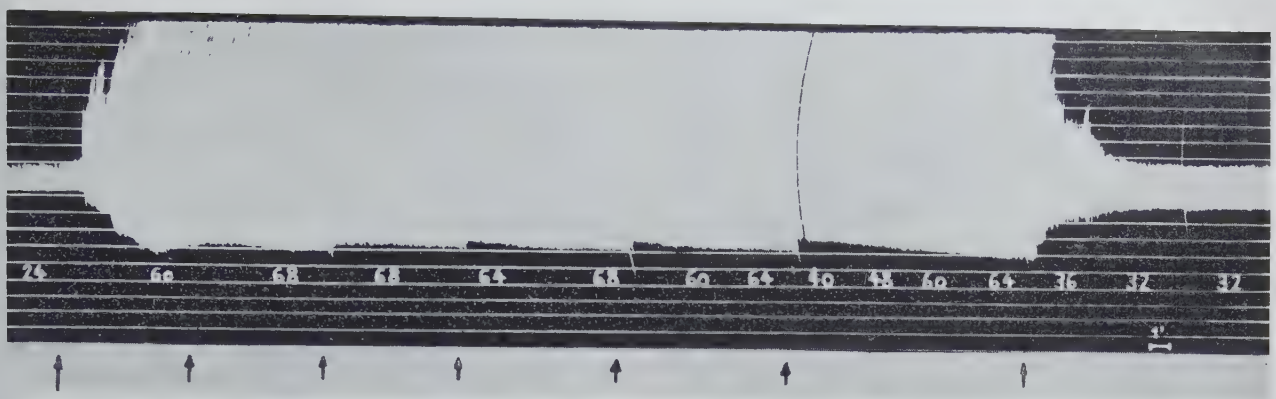


Abb. 4. *Katze.* Siehe Legende zu Abbildung 2.
Wirkung steigender Dosen von intravenös injiziertem Novocain und von Pendiomid auf die durch eine Embolie (1. Pfeil) veränderte Atmung.

Obwohl das Hexamethonium in der beschriebenen Versuchsanordnung ohne Wirkung blieb, beeinträchtigt es diejenige des Pendiomid. Dieses vermag nach vorheriger Gabe des Hexamethonium nicht mehr, oder erst in weit höheren Dosen als sonst, im geschilderten Sinne zu wirken. Durch weitere Untersuchungen bleibt abzuklären, ob sich das Hexamethonium und das Pendiomid nur in

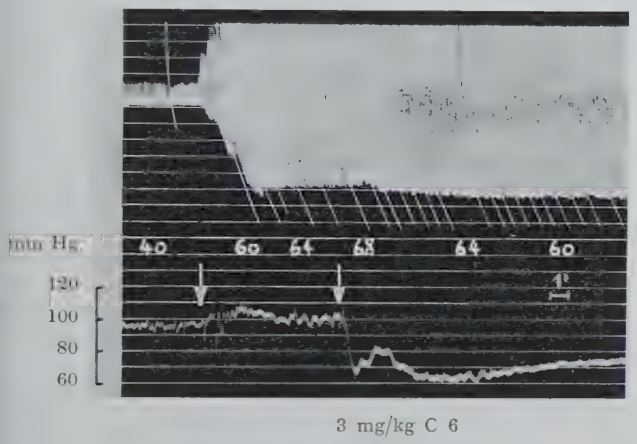


Abb. 5. *Katze.* Siehe Legende zu Abbildung 2.
Das ganglionär blockierende Hexamethonium wirkt auch in relativ hohen Dosen nicht in gleicher Weise wie das Pendiomid.

dieser Hinsicht oder auch in anderen pharmakologischen Wirkungsqualitäten gegenseitig beeinflussen, ferner ob die Wirkung des Pendiomid möglicherweise auch durch Substanzen mit vom Pendiomid abweichendem chemischem Aufbau und Wirkungstypus verändert werden könnte.

H. J. Bein

Biologische Abteilung der Ciba, Aktiengesellschaft, Basel, den 15. Oktober 1951.

Summary

The modification of the respiration under consideration, which appear after lung embolism, are not affected by sympathicolytics, parasympathicolytics, by combinations of these two, or by hexamethonium and tetraaethylammoniumbromide. They are, however, influenced by the ganglionic blocker, Pendiomide. The efferent sympathicus and the parasympathicus could therefore not be a decisive factor in the test described; alternatively of the substances tested, certain functional elements of these two systems are affected only by Pendiomide.

Modificazioni nelle proteine muscolari contrattili del coniglio in corso di avitaminosi E

È noto che il mioplasma delle fibre muscolari è massivamente coinvolto nel processo degenerativo cui questo tessuto va incontro nel corso della avitaminosi E (Aloisi[1]). Abbiamo pertanto iniziato uno studio, condotto sia dal punto di vista quantitativo che qualitativo (per esempio birifrangenza di flusso delle proteine) sulla compagine proteica delle fibre muscolari dei conigli distrofici nel quadro di una indagine più vasta sulla patogenesi della distrofia muscolare da avitaminosi E. In questa Nota vengono riferiti i dati quantitativi sulla estrazione delle varie proteine muscolari.

Modalità sperimentali. 21 conigli furono suddivisi in 3 lotti qualificati nella tabella. La dieta carente in vitamina E da noi usata era una lieve modificazione di quella di Houchin e Mattill[2]. Al lotto che riceveva la vitamina E questa veniva somministrata per via orale in ragione di 20 mg due volte la settimana.

Gli animali in avitaminosi venivano uccisi a distrofia conclamata, e quelli degli altri lotti dopo un periodo uguale o maggiore di dieta.

La estrazione delle proteine muscolari è stata seguita secondo la tecnica proposta da Szent-Györgyi[3], cioè con una tecnica che è fondamentalmente intesa alla estrazione e purificazione della miosina (miosina solubile in acqua o miosina propriamente detta) lasciando poi un residuo dal quale si può contemporaneamente estrarre l'actina. Questa però, nella maggior parte degli esperimenti, fu estratta seguendo le modificazioni apportate al metodo da Feuer *et al.*[4].

[1] M. Aloisi, Arch. Anat. Pat. e Med. Clin. *3*, 1 (1940); Atti Soc. it. Patol. *2*, 284 (1951).
[2] B. O. Houchin e H. A. Mattill, J. Biol. Chem. *146*, 301 (1942).
[3] A. Szent-Györgyi, Acta physiol. Scand. *9*, suppl. 25 (1945).
[4] G. Feuer, F. Molnar, E. Pettko e F. B. Straub, Hung. acta physiol. *1*, 150 (1948).

È noto che durante l'estrazione della miosina si ottiene, da principio una frazione precipitabile a pH 6,5 e ad una forza ionica corrispondente a 0,11. È questa una frazione di actomiosina che secondo Szent-Györgyi rappresenta il contenuto in actina del primo estratto, precipitato come actomiosina ad opera dell'ATP. È verosimile che la quantità di actomiosina ottenibile in tal modo dipenda non solo dalle quantità originarie di miosina e di actina, ma anche dal contenuto di ATP del primo estratto, e questo può variare notevolmente nel muscolo distrofico. Comunque noi abbiamo sempre conservato e purificato questa prima frazione actomiosinica la quale appunto compare nella nostra tabella come *actomiosina*. La miosina rimasta in soluzione veniva poi precipitata ad una forza ionica di 0,04, e lavata in 0,02 M KCl. Tale frazione compare nella nostra tabella come *miosina*. Dopo la precipitazione della miosina rimane una frazione proteica disciolta nel liquido supernatante costituita da varie altre proteine muscolari estraibili nelle suesposte condizioni ed anche da proteine non muscolari passate in soluzione (emoglobina, per esempio). Abbiamo chiamato questa complessa frazione proteica *frazione non contrattile* (f.n.c.). L'*actina*, estratta secondo il metodo citato, veniva controllata per le sue proprietà di legame con diversi anioni e cationi come indicato da Szent-Györgyi.

Tutte queste frazioni venivano determinate quantitativamente come azoto, per Kjeldahl. Del muscolo veniva determinato il peso secco che ci forniva un altro dato interessante; il contenuto in acqua dei muscoli distrofici il quale è riportato nella letteratura con dati non sempre concordanti.

Risultati. La seguente tabella riporta i valori del contenuto in acqua in per cento di peso fresco e delle varie frazioni proteiche in per cento di peso secco di muscolo nei tre lotti di conigli.

L'esame della tabella dimostra che:

a) i muscoli distrofici hanno un maggior contenuto in acqua rispetto ai conigli normali e a quelli di controllo (riforniti di vitamina E) i quali si comportano in tutto come normali;

b) nei conigli in cui la distrofia è di grado avanzato si ha un abbassamento del contenuto proteico dell'estratto muscolare e tale abbassamento è essenzialmente dovuto a forte diminuzione della actomiosina e a scomparsa della miosina. Va però subito detto che in diversi altri conigli (non riportati nella presente tabella) nei quali la distrofia non aveva ancora raggiunto un grado clinicamente appariscente si riscontrarono valori di actomiosina e di miosina variabili e anche vicini al normale, sebbene di regola sensibilmente ridotti;

c) i valori di actina, per quanto meno costanti, non dimostrano alcuna variazione dal punto di vista quantitativo nei tre lotti di animali;

d) nei conigli mantenuti alla dieta sintetica, ma riforniti di vitamina E tutti i dati quantitativi sulle proteine muscolari esaminate corrispondevano al normale.

I dati suesposti potrebbero far pensare che anche in questo caso si tratti di un grado estremo del noto effetto *Deuticke* (inestraibilità della miosina). Ma diverse considerazioni, in parte desunte da altri esperimenti, ci fanno pensare che si verifichi invece qui una vera e propria *perdita di miosina* (e anche di actomiosina) da parte del muscolo distrofico. Tra l'altro, esaminate per il contenuto proteico anche le soluzioni alcaline con cui si estrae successivamente il residuo muscolare per ricavarne l'actina, non vi si è riscontrata, nel caso degli animali distrofici, una maggiore quantità di proteina rispetto ai normali (come sarebbe stato da aspettarsi a titolo di compenso della mancata estrazione a pH 6,5) anzi, se mai, anche qui un minor contenuto proteico.

Sull'importanza dell'ATP nel determinare l'effetto Deuticke vi sono molte opinioni. Se quell'effetto fosse dovuto, come voleva Erdös[1] alla deficienza di ATP sarebbe da vedere se anche nel nostro caso i risultati avuti non siano da attribuire ad una perdita o diminuita produzione di ATP da parte del muscolo distrofico: ma ricerche eseguite da Bonetti e Frontali-Toschi[2] escludono una deficienza notevole nella capacità di sintesi dell'ATP del muscolo distrofico. Del resto Dubuisson[3], Crepax e Herion[4] e Crepax[5] hanno di recente ripreso questo argomento e negata e diminuita notevolmente l'importanza dell'ATP nel determinare l'effetto Deuticke. Per ciò che riguarda il caso specifico della distrofia da avitaminosi E ci ripromettiamo di indagare partitamente su questo punto.

E. Bonetti, M. Aloisi e P. Merucci

Centro per lo Studio della Fisiopatologia del C.N.R. presso l'Istituto di Patologia Generale, Università di Roma, il 10 settembre 1951.

[1] T. Erdös, Studies Inst. Med. Chem. Univ. Szeged *3*, 51 (1943).
[2] E. Bonetti e N. Frontali-Toschi, Atti Soc. it. Patol. *2*, p. II, 843 (1951).
[3] M. Dubuisson, *Les protéines musculaires*, Exposés annuels del Bioch. Méd. (Masson, Paris 1948); Biol. Review *25*, 46 (1950).
[4] P. Crepax e A. Herion, Bioch. et Biophys. Acta *6*, 54 (1950).
[5] P. Crepax, Boll. Soc. ital. Biol. Sperim. *26*, 1485 (1950).

Quantità delle frazioni proteiche estratte dai muscoli di conigli normali e distrofici

Lotti	N° animali	Acqua Percento di peso fresco	I estratto (Forza ionica = 0,66)		Actomiosina N mg	Miosina N mg	Actina N mg	N frazione non contrattile (f. n. c.) mg	N f. n. c. meno N non proteico 1° estratto mg
			N totale mg	N non proteico mg					
Conigli a dieta comune . .	6	77,64 ± 0,78	5075 ± 208	1408 ± 28	576 ± 36	931 ± 63	–	3287 ± 118	1879
Conigli a dieta priva di vitamina E (*Distrofia conclamata*)	9	81,54 ± 0,62	2669 ± 114	900 ± 56	139 ± 21	assente	395 ± 67	2527 ± 167	1627
Conigli alla stessa dieta + vitamina E	6	79 ± 0,91	4579 ± 243	1366 ± 245	547 ± 67	901 ± 77	352 ± 52	2894 ± 195	1523

I valori di N delle varie frazioni proteiche sono calcolati per cento grammi di peso secco di muscolo.

Summary

Extractions of muscle proteins of dystrophic, vitamin-E deficient rabbits show that in advanced dystrophy the actomyosin content of the extract (ionic strength = 0·11) is considerably reduced. The myosin content is even more reduced and may completely disappear from the extract. Actin, on the other hand, does not seem to be quantitatively effected by the dystrophy. The possible interrelationship between these results and the ATP content of the dystrophic muscles is briefly discussed.

Über Stoffwechselversuche mit radioaktivem Calcium

Im Verlauf von Stoffwechseluntersuchungen zum Karies-Fluor- und zum Rachitisproblem[1] mit Hilfe des radioaktiven Calciumisotops Ca^{45} sind wir zu einigen allgemeineren Ergebnissen gelangt, deren kurze Mitteilung uns hier gerechtfertigt erscheint. Zunächst bedingte die lange Versuchsdauer von 250 Tagen eine ständige Kontrolle der Radioaktivität unserer Präparate, wobei eine neue Bestimmung der Halbwertszeit des Ca^{45} möglich wurde. Es werden hierfür in der Literatur heute noch zwei Werte angegeben, ein älterer von $T = 180$ Tagen (besonders in amerikanischen Veröffentlichungen) und ein neuerer von $T = 152$ Tagen. Unsere Bestimmungen ergeben als Mittelwert $T = 152 \pm 1{,}5$ Tage, das heißt genau den neueren, von Solomon und Glenheim[2] angegebenen Wert. Weiter erfordert die relativ energiearme β-Strahlung des Ca^{45} von $E_0 = 0{,}254$ MeV eine Absorptionskorrektur für Ca-Präparate endlicher Dicke, die nach der vereinfachten, aber bei weitem genügenden Formel

$$I_{(0)} = I_{(x)} \frac{\mu x}{1 - e^{-\mu x}}$$

durchgeführt werden kann, worin I_0 die Strahlenintensität eines Präparats bestimmter Aktivität bei unendlich dünner Schicht, I_x die Strahlung dieses Präparates bei der Schichtdicke x, und μ den Masseschwächungskoeffizienten der Strahlung bedeuten. Dabei wird für β-Strahlen μ allgemein in cm^2/mg und x in mg/cm^2 gemessen. Die Bestimmung von μ für Ca^{45} in verschiedenen Materialien mit geringer Kernladungszahl ergab, daß die Schwächung der β-Strahlung bei Messung durch ein Zählrohr mit einer Wandstärke von 2 mg/cm^2 sehr annähernd exponentiell verläuft, mit $\mu = 0{,}107 \pm 0{,}002$ cm^2/mg, in sehr guter Übereinstimmung mit dem Wert von 0,105, der kürzlich von Comar, Hansard, Plumlee und Barrentine[3] angegeben worden ist. Die Dickekorrektur macht bei $x = 1$ mg/cm^2 somit ca. 5% des Meßwertes aus.

Das in unseren Versuchen verwendete Ca^{45}-Präparat bestand in einer sogenannten «Irradiation Unit» von 16 g $CaCO_3$, die nach Berechnung aus dem «Pilefaktor» eine spezifische Aktivität von 0,333 mc/g (Millicurie) Ca-Element, entsprechend 2,12 mc Ca^{45} für das Gesamtpräparat, aufwies. Eine eigene Aktivitätsmessung (nach der Methode des festen Raumwinkels) ergab eine Gesamtaktivität von 2,04 mc. Das $CaCO_3$ wurde in Ca-«Laktobionat» $Ca(C_{12}H_{21}O_{12})_2$ übergeführt[4]. Es wurden insgesamt 1070 cm^3 einer Ca-Laktobionatlösung erhalten, die zu Beginn der Tierversuche total 5,61 mg Ca mit 1,87 μc (Mikrocurie) Ca^{45} im cm^3 enthielt. Diese spezifische Radioaktivität ist für Stoffwechselversuche an Rattenknochen in ihrer Größenordnung gerade ausgezeichnet geeignet, wenn die erhaltenen Knochenpräparate (extrahiertes CaO oder $CaCl_2$) ein Gewicht von etwa 10 mg aufweisen.

In Übereinstimmung mit früheren Autoren[1], die teilweise mit Sr und Ra gearbeitet haben, wurde gefunden, daß der weitaus größte Teil des vom Tierorganismus aufgenommenen Ca im Knochensystem gespeichert wird, wobei nach ca. 20 Tagen (bei täglicher Ca-Zufuhr) ein Gleichgewicht zwischen aufgenommener und wieder ausgeschiedener Ca-Menge vorhanden ist. Die Aufnahme kann angenähert formuliert werden durch die Funktion:

$$\frac{dM}{dt} = a - bM; \quad M = \frac{a}{b}(1 - e^{-bt}),$$

welche bei größeren Zeiten einem konstanten Grenzwert $M = a/b$ zustrebt. Dieser liegt bei unseren Versuchen für den Incisivus bei etwa 0,6%, beim Molar bei etwa 0,3%, bei der Epiphyse bei etwa 0,8% und bei der Diaphyse bei etwa 0,5% Ca-Element.

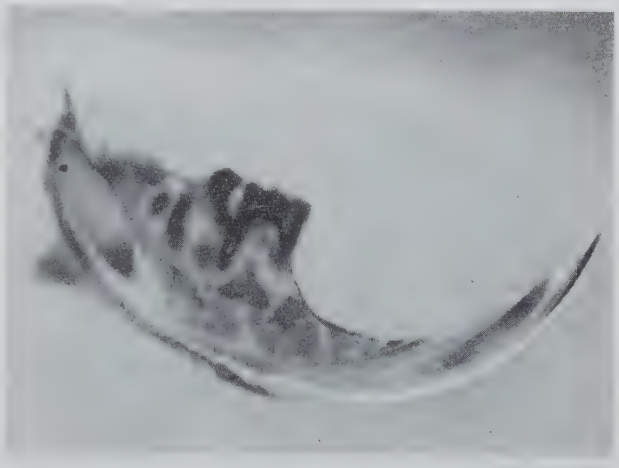


Abb. 1. – Autoradiographie eines angeschliffenen Rattenkiefers auf feinstkörnigem Film nach Verfütterung von Ca^{45}. Exposition 30 Tage. Positivkopie, helle Zonen: starke Ca^{45}-Ablagerung. Anreicherung besonders in den äußern Schichten des Incisivus (zonare Struktur) und im Innern der Molaren.

Innerhalb der Knochen und Zähne lagert sich das zugefügte Ca in verschiedenen Zonen in verschiedenen Konzentrationen ab, wie neben dem Verhältnis Epiphyse: Diaphyse sehr schön durch die Autoradiographie eines angeschliffenen Rattenkiefers (Abb. 1) nach 20tägiger Ca-Eingabe gezeigt wird.

Tabelle I

Ca-Gehalt einiger Knochen in Prozent nach Trocknung

	Incisivus	Molar	Epiphyse	Diaphyse
Maximum . .	29,4	28,7	19,7	24,8
Minimum . .	27,5	26,6	14,2	18,3
Mittel . . .	28,5	27,5	16,8	20,2

[1] T. Gordonoff und W. Minder, Helv. physiol. acta *9C*, 24 (1951); Int. Z. Vitaminforsch. *23*, 16 (1951).

[2] A. K. Solomon und L. E. Glenheim, Phys. Rev. *73* 415 (1948).

[3] C. L. Comar, S. L. Hansard, M. P. Plumlee und B. T. Barrentine, Nucleonics *8*, 19 (1951).

[4] Die hierzu notwendige Laktobionsäure sowie die Methodik zur Überführung wurden uns in sehr verdankenswerter Weise von den Herren Prof. A. Stoll und Dr. Jucker, Basel, zur Verfügung gestellt.

[1] W. Campbell und D. M. Greenberg, Proc. nat. Acad. Sci. Amer. *26*, 176 (1940). – D. M. Greenberg, Z. biol. Chem. *157*, 99 (1945). – W. P. Norris und W. Kisieleski, Cold Spring Harbour Symposia *13*, 164 (1948).

Über den Ca-Gehalt der Zähne und Röhrenknochen in Prozent geben die Werte der Tabelle I Auskunft (13 Analysen).

In der Tabelle I sind auch Bestimmungen an ganz jungen Tieren enthalten, bei denen der Ca-Gehalt der Röhrenknochen deutlich geringer ist als bei ältern. Unsere Analysen decken sich sehr gut mit denen von Comar und Mitarbeitern, welche für den Incisivus 27,6% und für den Femur 19,1% angegeben haben. Es mag von Interesse sein, mit den obigen Zahlen den Ca-Gehalt des Hydroxylapatites $Ca_5(PO_4)_3OH$ zu vergleichen. Dieser beträgt 39,84%. Der ungeglühte Knochen enthält offenbar noch sehr beträchtliche Mengen organischer Substanzen und Wasser.

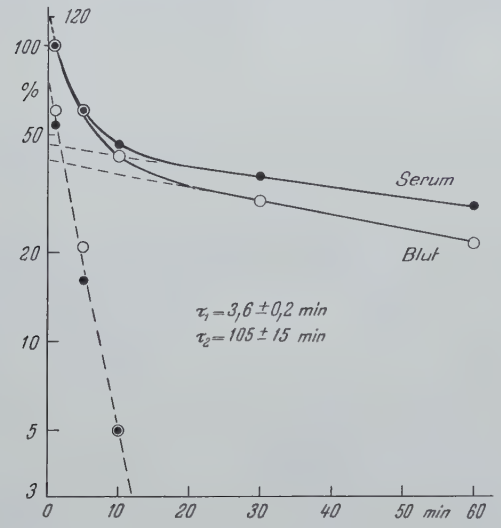


Abb. 2. – Ca^{45}-Gehalt der Proteine des Blutes bzw. Blutserums bei verschiedenen Zeiten nach intravenöser Injektion von Ca^{45}-Laktobionat. Ordinate: Prozente des Ca^{45}-Gehaltes nach Injektion in logarithmischer Darstellung (1 min = 100%). Zusammensetzung der Konzentrationskurve aus zwei Geraden verschiedener Neigung.

Über den Ca-*Ersatz* in Prozent des Gesamt-Ca-Gehaltes der Knochen nach 10- bis 25-tägiger Eingabe von je einem Tropfen unserer Lösung, bzw. nach Laktation durch entsprechend behandelte Muttertiere orientieren die Mittelwerte der Tabelle II.

Tabelle II

Prozentsatz des durch zugeführtes Ca in den Zähnen und Knochen ersetzten Ca

	Incisivus	Molar	Epiphyse	Diaphyse	Incisivus: Molar	Epiph.: Diaph.
Alte Tiere . .	0,65	0,29	0,77	0,47	2,24	1,63
Junge, durch Laktation ernährte Tiere	0,57	0,53	0,50	0,50	1,08	1,00
Rachitis . . .	0,18	0,075	0,23	0,13	2,40	1,77

Eine Rachitisdiät setzt den Ca-Ersatz durchgehend auf weniger als die Hälfte herab, wobei die relativen Verhältnisse zwischen den untersuchten Knochen aber nicht geändert werden. Bei ganz jungen Tieren, bei denen die Ca-Zufuhr durch Muttermilch erfolgte, ist der Ca-Ersatz, soweit er hier geprüft wurde, überall fast genau derselbe.

Zur Untersuchung der Probleme des Ca-Transportes[1] wurde die Ca-Laktobionatlösung Kaninchen injiziert und zu verschiedenen Zeiten zwischen 1 und 60 min dem Tier am anderen Ohr Blut entnommen. Dabei fand sich ein sehr rascher Abfall der radioaktiven Ca-Konzentration im Blut und Serum bis zu etwa 10 min nach der Injektion, der sich von hier an dann wesentlich verlangsamte. Es war naheliegend, anzunehmen, daß der steile Abfall dem noch ungebundenen Ca^{++} entsprechen würde. Es wurde deshalb ohne Änderung des pH das Serumeiweiß mit Alkohol in der Wärme ausgefällt und das Filtrat auf Ca^{45} untersucht. Die Filtrate sind schon nach einer Minute praktisch Ca^{45}-frei, das heißt, schon nach dieser sehr kurzen Zeit ist praktisch das gesamte injizierte Ca an Protein gebunden. Es mag in diesem Zusammenhang interessant erscheinen, daß bei Fällung mit Trichloressigsäure etwa 50% des Ca^{45} im Filtrat vorhanden sind. Die Abbildung 2 stellt demnach die in den Proteinen des Blutes und des Serums vorhandene Ca^{45}-Konzentration dar. Die mittlere Konzentrationskurve zwischen Blut und Serum (semilogarithmische Darstellung) läßt sich genau durch die Summe von zwei Exponentialfunktionen darstellen (zwei Geraden in Abb. 2):

$$C_{(t)} = C_0\,(0{,}64 \cdot e^{-0{,}28\,t} + 0{,}36\,e^{-0{,}0095\,t}),$$

wenn die Zeit t in Minuten gemessen wird. Die mittlere Zeit, während der etwa zwei Drittel des (als Laktobionat) injizierten Ca^{45} in den Proteinen bleibt, beträgt nur 3,6 min, für das restliche Drittel 105 $\pm$15 min. Die Blutzellen sind praktisch Ca^{45}-frei. Die kleinen Unterschiede der Messungen zwischen Blut und Serum sind wohl ohne Bedeutung.

Die Versuche werden fortgesetzt, um die Ca-Bindung an die einzelnen Eiweißfraktionen aufzuklären. Herrn Prof. H. Nitschmann sind wir für sehr wertvolle Ratschläge zu großem Dank verpflichtet.

W. Minder und T. Gordonoff

Radium-Institut Bern, den 20. Oktober 1951.

Summary

Ca-metabolism is investigated in the teeth and bones of rats by means of the radioactive isotope Ca^{45}. Rates of Ca-content and -turnover are given and a new determination of the halflife of Ca^{45} is made. Even 1 min. after injection, all the Ca is bound to blood-proteins from whence it is extracted by the body at different velocities which can be determined.

[1] E. Rothlin, Vjschr. naturf. Ges. Zürich *90*, 195 (1945). – E. Rothlin und R. Bircher, Odonto-Stomatologie *2*, 167 (1949).

Response of the Pancreas to Chronic Injury

In the course of investigations conducted for several years into the different means of inducing parenchymatous lesions in different organs, it could be established that the pancreas is extremely susceptible to all kinds of injury exerted on the organism. The histological picture arising in consequence of deficiency diets or poisoning with chlorinated hydrocarbons was invariably a cystic degeneration associated with fibrosis of the excretory system. The lesion closely resembling the well-known picture of cystic fibrosis was exactly similar to those found in humans suffering from uremia[1], or infants de-

[1] A. H. Baggenstoss, Amer. J. Path. *24*, 1003 (1948).

veloping nutritional edema[1], or those dying with different infectious diseases or tropical malnutrition[2].

It seemed, therefore, interesting to observe whether the cystic change induced by the above means was a common response of the pancreas to all kinds of repeatedly applied slight lesions or just a coincidentally similar effect of both the diet and the poison used.

Experimental. Five groups of albino rats weighing 70 to 170 g were exposed to dietary, toxic and combined injuries as follows.

(I) The first group consisting of 93 rats was fed a deficiency diet[3] until the animals died or were killed. The composition of the diet was as follows:

Glue	15 %
dried baker's yeast	3 %
corn starch	67 %
margarine	10 %
cod liver oil with added vitamin A	1 %
salt mixture No. 2 USP XII	4 %

with a daily supplement of

thiamine hydrochloride	20 μg
riboflavin	25 μg
pyridoxin	20 μg
calcium pantothenate	100 μg

to each animal.

Nine grams of food were allowed to each animal daily. Water was not restricted.

(II) The 2nd group, consisting of 94 animals, was exposed to chronic poisoning by daily subcutaneous injection of carbon tetrachloride, 0·07 ml per 100 g of body weight[4]. This group had access to the following diet and water until the animals died or were killed.

Casein	12 %
dried baker's yeast	3 %
corn starch	70 %
margarine	10 %
cod liver oil with added vitamin A	1 %
salt mixture No. 2 USP XII	4 %

and the same daily amount of water soluble vitamins as above.

(III) The 3rd group, 16 rats, were subjected to chronic oral administration of zinc sulfate, 0·075 g daily per animal, mixed to the diet of the 2nd group.

(IV) The 4th group, consisting of 8 animals, received histamine, 150 μg by subcutaneous injection every other day, with the diet detailed under (I).

(V) The 5th group, consisting of 16 animals, was treated with histamine, 150 μg by subscutaneous injection every other day, and fed on the diet detailed under (II).

Results. The pancreatic process observed began with the disappearance of the zymogen granules from the supranuclear zone, soon followed by eosinophilia of the cytoplasm, a phenomenon also recorded by Gambill, Comfort and Baggenstoss[5], Rumiantsev[6], Farber and Popper[1], and Goldberg, Chaikoff and Dodge[2]. The process takes about 14 days to develop. After this time vacuoles appear within the cells. The vacuoles subsequently increase in size, producing cyst-like structures which later become surrounded by fibrotic tissue. The lesions appeared between the 4th and 6th weeks. No evidence whatever of a damage to the islets of Langerhans was ever encountered.

Cystic Degeneration of Pancreas Following Different Types of Chronic Injury

Type of injury	Group No.	Number of Rats treated	Number of lesion provoked	Note
Deficiency diet	I	93	86	see Figure 1
Carbon tetrachloride	II	94	89	
Zinc sulfate	III	16	12	see Figure 2
Histamine	IV	8	7	
Deficiency diet plus histamine	V	12	9	

Induction of the change described was successful in 203 rats out of 223, as shown in the Table.

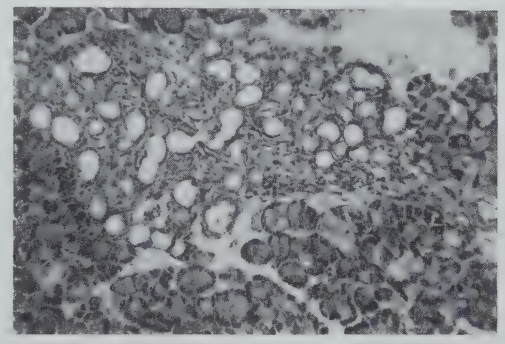


Fig. 1.—Pancreas from rat fed on deficiency diet, killed on the 35th day.

There was no difference whatever between the histological appearance of the lesions provoked in the different groups. For the sake of illustration, the pancreas of a rat belonging to the 1st group and that of an animal of the 3rd group are shown in Figures 1 and 2.

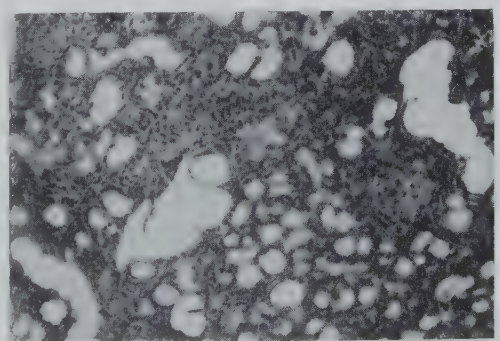


Fig. 2.—Pancreas from rat exposed to administration of zinc sulfate for 72 days.

[1] P. V. Véghelyi, Acta Paed. *36*, 128 (1948); Ann. Paed. *175*, 349 (1950).

[2] Ph. H. Hartz, Doc. Neerl. et Indon. Morbis Trop. *1*, 41 (1949).

[3] P. V. Véghelyi, T. T. Keményi, J. Pozsonyi, and J. Sós, Amer. J. Dis. Child. *79*, 658 (1950).

[4] P. V. Véghelyi, T. T. Keményi, J. Pozsonyi, and J. Sós. Amer. J. Dis. Child *80*, 390 (1950).

[5] E. E. Gambill, M. W. Comfort, and A. H. Baggenstoss, Gastroenterol. *11*, 1 (1948).

[6] L. N. Rumiantsev, Arkh. Patologii *11*, 48 (1949).

[1] E. Farber and H. Popper, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *74*, 838 (1950).

[2] R. C. Goldberg, I. L. Chaikoff, and A. Dodge, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *74*, 869 (1950).

Discussion. Cystic degeneration of the pancreas in the rat can be produced by several types of chronic injury which are biologically and chemically entirely different. Thus it seems that the response of the pancreas to different small injuries exerted throughout long periods is necessarily the same. It remains to be decided whether the immediate factor leading to the changes described is a direct damage to the cells of the pancreas or a mutual effect of the above types of injury on some process of intermediary metabolism.

P. V. Véghelyi, T. T. Kemény, J. Sós, Magda B. Händel, L. Csalay, and Gabrielle Horváth.

From the I[st] Department of Pediatrics and the Institute of Experimental Medicine, University of Budapest, October 1, 1951.

Zusammenfassung

Fünf Gruppen von weißen Ratten wurden verschiedenen chronischen Schädigungen ausgesetzt: Mangeldiät, chronische Vergiftung mittels Tetrachlorkohlenstoff, Verabreichung von Zinksulfat, wiederholte parenterale Gaben von Histamin, gleichzeitig einer Mangeldiät und Histamin.

Alle fünf Schädigungsformen ergaben die gleiche Veränderung: zystische Degeneration des exkretorischen Systems des Pankreas mit konsekutiver Fibrose.

Das Pankreas antwortet offenbar auf alle Formen von milder chronischer Schädigung gleichartig.

Zur Kreislaufwirkung des 1-Hydrazinophthalazin

Die pharmakologische Untersuchung von Phthalazinderivaten führte zu Verbindungen, die eine langdauernde Senkung des arteriellen Druckes bewirken. Der Mechanismus ihrer Kreislaufwirkung unterscheidet sie von bisher bekannten blutdrucksenkenden Substanzen; eine adrenalin- und noradrenalinhemmende Wirkung bestimmten Charakters wurde festgestellt (Gross, Druey, Meier[1]). Die auch klinisch erhärtete blutdrucksenkende Wirkung bei Fällen von erhöhtem Blutdruck, wobei besonders diejenige des Präparates Nr. 5968 «Apresolin» (1-Hydrazinophthalazin) im Vordergrund steht, regte an, zu untersuchen, ob andere blutdrucksteigernde Prinzipien, die allein oder in Verbindung mit anderen für die Entstehung oder Aufrechterhaltung einer Hypertonie verantwortlich sein könnten, antagonistisch zu beeinflussen sind. Nach Taylor, Page und Corcoran[2] verhindert Präparat 5968 beim Hund den Blutdruckanstieg nach Reizung des zentripetalen Vagus und auch denjenigen nach Injektion von Serotonin, nicht dagegen denjenigen nach Renin, Angiotonin und Pitressin.

Es schien deshalb angezeigt, zu untersuchen, welche besonderen experimentellen Bedingungen für eine antagonistische Wirkung gegenüber solchen Stoffen Voraussetzung sind, und ob möglicherweise abhängig von solchen nur einzelne Komponenten beeinflusst werden.

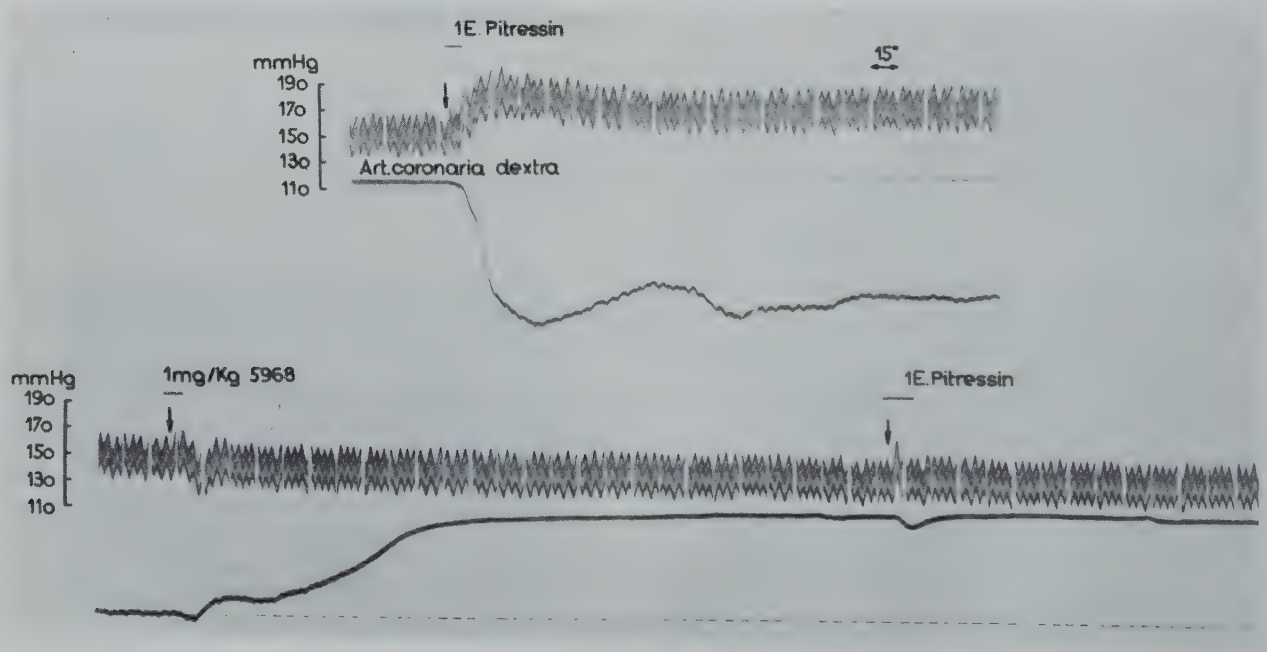
Es wurde daher unter anderem untersucht, ob die bekannte koronarverengernde Wirkung des blutdrucksteigernden Prinzipes aus dem Hypophysenhinterlappen durch Präparat 5968 antagonistisch beeinflusst wird, besonders auch, da bis heute – mit Ausnahme von Spasmolytika – keine Körper bekannt sind, die Pitressin-Kreislaufwirkungen in typischer Weise hemmen.

In Übereinstimmung mit bereits bekannten Befunden[3] ist mit 0,1 E Pitressin (Parke Davis & Co.) in der Durchströmungsflüssigkeit beim isolierten Kaninchenherzen

[1] F. Gross, J. Druey und R. Meier, Exper. *6*, 11 (1950).

[2] R. D. Taylor, I. H. Page und A. C. Corcoran, Arch. int. Med. *88*, 1 (1951).

[3] Zum Beispiel *Handbuch experimenteller Pharmakologie*, 3. Erg.-Bd. (Springer, Berlin 1937).



Katze. Wirkung von 1 E/Tier Pitressin auf den arteriellen Mitteldruck und das Stromvolumen in der *Arteria coronaria dextra* vor und nach 1 mg/kg i.v. 5968. Von oben nach unten: Karotisdruck, Stromvolumen (*a. coronaria dextra*, bestimmt mit der Reinschen Thermostromuhr: Ausschlag nach oben bedeutet Zunahme, nach unten Abnahme des Stromvolumens). Die durch Pitressin verursachte Koronarminderdurchblutung (untere Kurve) wird durch 5968 nicht plötzlich, sondern relativ langsam aufgehoben, jedoch bevor noch der volle durch 5968 bedingte Blutdruckabfall erreicht wird.

(Langendorff) eine deutliche Verminderung der Koronardurchströmung festzustellen, während beim isolierten Katzenherzen auch mit bedeutend höheren Konzentrationen (10 E) nur eine relativ geringe Minderdurchströmung erhalten wird. Zugabe von Präparat 5968 zur Durchströmungsflüssigkeit in einer Konzentration von 10^{-7}, die bei isolierten Katzen- und Kaninchenherzen eine Vermehrung der Koronardurchströmung bewirkt, verhindert das Eintreten dieser Pitressinwirkung oder hebt sie bei nachträglicher Zugabe auf. Bei der Katze wird der Koronardurchfluss *in situ* auch mit relativ kleinen Dosen Pitressin (0,1–1 E/Tier) deutlich vermindert. Diese Verminderung der Koronardurchströmung geht nicht parallel dem Ausmass der Blutdrucksteigerung, kann diese auch bedeutend überdauern und wurde in unseren Versuchen in der Regel mit kleineren Dosen erhalten als eine Blutdrucksteigerung. Eine Tachyphylaxie in bezug auf diese Koronarwirkung scheint im Gegensatz zur Wirkung auf den Blutdruck nicht ausgeprägt vorhanden zu sein, ja in einzelnen Fällen wurde die Pitressinwirkung auf die Koronardurchströmung bei wiederholter Pitressinzufuhr ausgeprägter und länger anhaltend trotz tachyphylaktischer Blutdruckwirkung. In analoger Weise wie beim isolierten Herzen wird bei mit Dial narkotisierten Katzen mit 0,1–1 mg/kg intravenös injiziertem 5968 eine Verminderung der Koronardurchströmung durch Pitressin auch *in situ* antagonistisch beeinflusst (Abb.). In einzelnen Versuchen – sowohl *in situ* als am isolierten Herzen – wirkt Pitressin nach Präparat 5968 nicht mehr koronarverengernd, sondern es kann nun eine zusätzliche deutliche Mehrdurchblutung beobachtet werden.

Bei der Katze schwächten 0,1–1 mg/kg intravenös 5968 die blutdruckerhöhende Wirkung von 1 E Pitressin bei 8 von 12 Tieren über rund zwei Stunden signifikant ab. Das Ausmass dieses Pitressin-antagonistischen 5968-Effektes geht der oben erwähnten Pitressin-inhibierenden Koronarwirkung nicht parallel. Möglicherweise weist dieses unterschiedliche Verhalten von Blutdruck und Durchblutung darauf hin, dass an der Katze der Pitressin-Blutdrucksteigerung und ihrer antagonistischen Beeinflussung ein komplexer Mechanismus zugrunde liegt.

H. J. Bein, J. Tripod und R. Meier

Aus den biologischen Laboratorien der Ciba, Aktiengesellschaft, Basel, den 28. November 1951.

Summary

Preparation Ciba 5968 inhibits the coronary constriction due to pitressin on the isolated rabbit's and cat's heart and on the cat's heart *in situ*.

Über einen neuen, langwirkenden Ester des Desoxycorticosterons

In früheren Untersuchungen konnten Miescher und Mitarbeiter zeigen[1], dass durch geeignete Veresterung Wirkungsdauer und Wirkungsausbeute öliger Lösungen von Steroidhormonen zu verbessern sind. Im Vordergrund des Interesses standen zunächst die Ester der Sexualhormone Oestradiol und Testosteron, jedoch wurden bereits auch Ester von Desoxycorticosteron und höheren organischen Säuren dargestellt[2], die hinsichtlich ihrer Wirkungsdauer das allgemein verwendete Desoxycorticosteron-azetat übertrafen. Daneben hat in letzter Zeit die therapeutische Anwendung optimal wirksamer Kristallsuspensionen, wie sie von R. Meier und Mitarbeitern charakterisiert worden sind[1], zunehmende praktische Bedeutung erlangt. Auf Grund dieser Arbeiten sind neue Ester von Steroidhormonen für verschiedene Anwendungsformen hinsichtlich Schwellenwert, Eintritt, Intensität und Dauer der Wirkung zu definieren. Keiner der bisher bekannten Ester besitzt alle diese Wirkungsfaktoren in optimaler Weise.

Unter einer Anzahl von Miescher und Mitarbeitern neu dargestellter Ester des Desoxycorticosterons zeigte das Desoxycorticosteron-trimethylazetat[2] sowohl hinsichtlich seiner Wirkungsschwelle als auch in bezug auf seine Wirkungsdauer Vorzüge gegenüber dem Desoxycorticosteron-azetat, über die im folgenden kurz berichtet wird.

An nebennierenlosen Ratten beträgt die zur Lebenserhaltung notwendige *Schwellendosis* von Desoxycorticosteron-trimethylazetat bei täglicher subkutaner Injektion öliger Lösung 0,05 mg, während von Desoxycorticosteronazetat unter gleichen Bedingungen dafür etwa die doppelte Dosis (0,09–0,12 mg) erforderlich ist. Ähnlich liegen die Verhältnisse am nebennierenlosen Hund, bei dem 0,3 mg Desoxycorticosteron-trimethylazetat in öliger Lösung täglich genügen, um einen Kompensationszustand aufrechtzuerhalten, während der Schwellenwert für Desoxycorticosteronazetat bei etwa 0,5 mg täglich liegt.

Als wesentlicher Vorteil gegenüber dem Azetat ist jedoch die verlängerte *Wirkungsdauer* des Trimethylazetats zu nennen. Nach einmaliger subkutaner Injektion von 10 mg Desoxycorticosteron-trimethylazetat in öliger Lösung überleben nebennierenlose Ratten durchschnittlich 35 Tage, während die Überlebensdauer nach Injektion der gleichen Dosis von Desoxycorticosteronazetat nur 12–15 Tage beträgt. Am nebennierenlosen Hund treten bei einmaliger subkutaner Injektion von 5 mg des Trimethyl-azetats in öliger Lösung nach 12 Tagen und bei 10 mg erst nach 14–15 Tagen Insuffizienzerscheinungen auf, während nach gleichen Dosen von Desoxycorticosteron-azetat bereits innerhalb 7 bzw. 8 Tagen Bluteindickung und Anstieg des Reststickstoffs im Blut als Ausdruck ungenügender Kompensation nachweisbar sind.

Besonders günstig liegen die Verhältnisse bezüglich der Wirkungsdauer bzw. Wirkungsausbeute bei Anwendung von Mikrokristallsuspensionen, für die neben den bereits erwähnten physikalisch-chemischen Eigenschaften die Kristallgrösse als zusätzlicher Faktor von ausschlaggebender Bedeutung ist. Mit Suspensionen, deren Kristalle Durchmesser von 0,01–0,1 mm aufwiesen, war bei einmaliger Gabe von 10 mg an der Ratte eine Wirkungsdauer von durchschnittlich 50 Tagen nachweisbar. Am nebennierenlosen Hund konnte mit der gleichen Einzeldosis ein Kompensationszustand während etwa 40 Tagen aufrechterhalten werden. Desoxycorticosteron-azetat besitzt dagegen beim Hund auch bei Verwendung grösserer Kristalle (0,1 bis 0,25 mm) nur eine Wirkungsdauer von etwa 18 Tagen.

Die am Tier festgestellten günstigen Wirkungsqualitäten von Desoxycorticosteron-trimethylazetat lassen diesen Ester besonders geeignet für eine therapeutische Anwendung erscheinen. Bisher vorliegende, allerdings

[1] K. Miescher, A. Wettstein und E. Tschopp, Biochem. J. *30*, 1977 (1936), – K. Miescher, C. Scholz und E. Tschopp, Biochem. J. *32*, 725, 1273 (1938).

[2] K. Miescher, W. H. Fischer und E. Tschopp, Nature *142*, 435 (1938).

[1] R. Meier, P. Gasche und H. Frey, Schweiz. Med. Wschr. *76*, 107 (1946).

[2] P. Wieland, J. Heer, J. Schmidlin und K. Miescher, Helv. chim. acta *34*, 354 (1951).

Schwellendosis und Wirkungsdauer von Desoxycorticosteron-trimethylazetat und Desoxycorticosteron-azetat an der nebennierenlosen Ratte und am nebennierenlosen Hund

	Schwellendosis bei täglicher Applikation öliger Lösung		Wirkungsdauer			
			10 mg ölige Lösung 1 mal s.c.		10 mg Mikrokristall-suspension, 1mal s.c.	
	Ratte	Hund	Ratte	Hund	Ratte	Hund
Desoxycorticosteron-trimethylazetat . .	0,05 mg	0,3 mg	35 Tage	14–15 Tage	50 Tage	40 Tage
Desoxycorticosteron-azetat	0,1 mg	0,6 mg	12–15 Tage	8 Tage	20–25 Tage	18 Tage

erst vereinzelte klinische Erfahrungen[1] haben die tierexperimentellen Befunde im wesentlichen bestätigt.

F. Gross und E. Tschopp

Aus den wissenschaftlichen Laboratorien der Ciba, Aktiengesellschaft, Basel, den 28. Dezember 1951.

Summary

Desoxycorticosterone-trimethylacetate, a new ester of desoxycorticosterone, shows the following special properties as compared with desoxycorticosterone-acetate: longer duration of action if applied in form of an oily solution, better efficiency if injected in form of a microcrystalline suspension, even if the crystals are of smaller size than those of a desoxycorticosterone-acetate suspension. There is some evidence that desoxycorticisterone-trimethylacetate might be more useful for therapeutic application than the acetate, especially in the form of microcrystalline suspensions, which are easy to handle and well tolerated in human beings.

[1] P. Forsham und T. Frawley, J. clin. Endocrinol. *11*, 772 (1951).

PRO LABORATORIO

Manometric Measurement of Gas Evolution in High Temperature Reactions

The apparatus described was devised for the study of the kinetics of gas evolution from solid phase reactions in the temperature range of 150–500°C. It can, however, be equally well applied for the investigation of the thermal decomposition of solids or of reactions between solids and gases, and, in general, for all reactions accompanied by changes of pressure.

Apparatus for the measurement of gas evolution in high temperature reactions generally consists of a reaction chamber, connected to a vacuum pump, a manometer and a "cold limb" which contains the sample before the start of the reaction. The reaction chamber is evacuated and heated to the desired temperature and the sample introduced into the reaction chamber by some mechanical device, such as lowering it in a small bucket suspended by a thin wire[1], or by pushing it into the reaction space by means of an electromagnet[2]. The existence of a relatively large volume outside the reaction chamber and of a considerable temperature gradient cause an inaccuracy in the conversion of the pressure data to standard conditions.

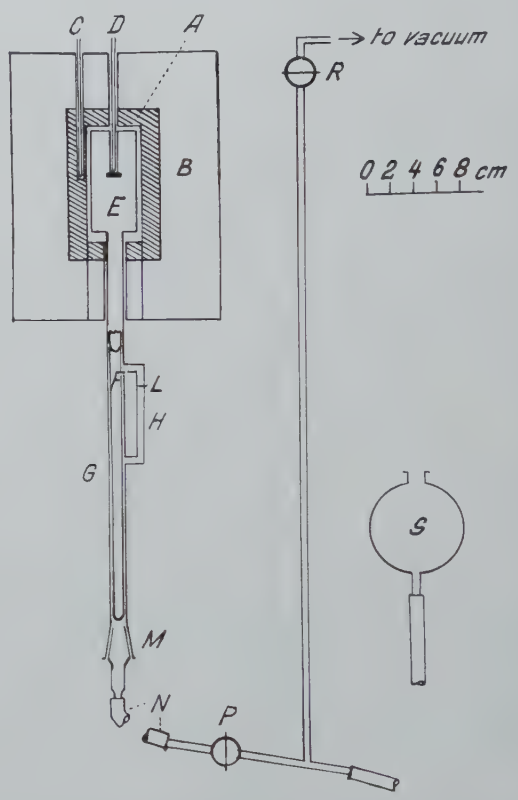


Fig. 1.—Scale Diagram of the Apparatus.
A, heating block; *B*, insulation; *C* and *D*, thermocouples; *E*, reaction chamber; *F*, floating sample holder; *G*, neck; *H*, side arm; *L*, reference mark; *M*, ground-glass joint; *N*, rubber vacuum tubing; *K*, measuring arm; *S*, levelling bulb; *P* and *R*, stopcocks.

If, furthermore, a U-type manometer is used, there is also a correction for the change of volume caused by the displacement of the mercury. These disadvantages are avoided in the simple apparatus described in this paper. Here, the reaction chamber itself is used as the constant-volume part of a manometer in which the mercury is always kept on the same mark by a levelling bulb; the pressure changes are read in the second (evacuated) limb of the manometer and the sample is introduced into the reaction chamber by means of a floating sample holder by suitable manipulation of the mercury.

Description of the apparatus (see Fig. 1).

The furnace. The cylindrical heating block, *A* (length: 14 cm; diameter: 8 cm; wall: 15 mm) was made of steel,

[1] E. G. Prout and F. C. Tompkins, Trans. Farad. Soc. *40*, 488 (1944).

[2] S. Patai and E. Hoffmann, J. Amer. Chem. Soc. *72*, 5098 (1950).

wrapped with two thin layers of mica and wound with 10 m flat Cr–Ni wire (resistance 10 Ω/m); its upper end was closed, while its lower end carried removable plugs so that the reaction chamber could be inserted. *A* was insulated with light magnesium oxide, *B*; a well carried the chromel-alumel thermocouple *C*, which was connected to the pyrometer. The temperature fluctuation of the heating block at 400°C was about 2°; in the reaction chamber, about 1°.

The reaction chamber, made of heavy-walled Pyrex glass (*E*) was 100 mm long and 40 mm in diameter. The well (40 mm deep), provided for the thermocouple, *D*, was joined to a glass button of 10 mm diameter, which served as a buffer for the sample holder *F*. The neck, *G*, of the reaction chamber was 385 mm long, terminating in a 14/35 standard ground glass joint, *M*. To eliminate differences in the capillary depression of the mercury, a side arm, *H*, made of the same glass tubing as the measuring arm of the manometer, *K*, was attached to *G*. It carried a reference mark, *L*. *H* was filled with closely fitting glass pieces above the mark *L*, so as to reduce still further the dead volume. The male part of *M* was connected to *K* by a piece of rubber vacuum tubing, just long enough to permit the opening of *M*. The measuring arm, *K*, was backed by a millimetre scale, and the levelling bulb, *S*, held in position by a ring with an attachment for fine adjustment. *K* was connected (above the stopcock, *R*) to the vacuum-system. The sample holder *F* was made of glass tubing, closed at both ends, with a recess at the upper end for the sample. The clearance between *F* and *G* was 0·5 mm.

Operation. *F* with the sample is introduced into *G*. When *M* is closed, *F* rests on the male part of *M*. The levelling bulb *S* is lowered about 80 cm below desk level and the whole apparatus evacuated; simultaneously the reaction chamber is heated to the desired temperature. Stopcock *P* is now closed and *S* raised until the mercury passes stopcock *R*, which is immediately closed[1].

The levelling bulb is then lowered to the level of *L*, *P* is opened so that the mercury flows into *G*, and *F* floats on top of the mercury and rises to the glass button of the well of the thermo-couple *D*[2]. The levelling bulb is now adjusted quickly so that the mercury in *H* stands exactly at *L*, and the position of the mercury in *K*, as well as the time, are noted. As the pressure in *E* rises, the mercury level in *H* falls; before each reading of *K*, it has to be adjusted again to *L*. No manipulation of *S* is necessary between readings up to a pressure change of 40–50 mm.

After completion of the reaction, *S* is again lowered to about 80 cm below desk level. In this position, gas samples can be withdrawn through *R*. Air is *slowly* admitted into the apparatus, *M* opened, the sample holder removed, weighed (if necessary) and cleaned. The apparatus is now ready for a second operation.

Calculation of results. In the apparatus used, the total dead volume (outside the heating block) was about 1·3 cm³ (less than 1·5% of the volume of the reaction chamber). The temperature gradient was confined to a volume of about 0·7 cm³ (the part of the clearance between *F* and *G*, passing through the isolation of the furnace).

[1] This is to ensure Toricellian vacuum above the mercury in the measuring arm. If the mercury is not absolutely clean and gas-free, it is preferable to leave *K* connected to the vacuum during the experiment.

[2] This should take place already when the mercury is still about 4–5 cm below mark *L*.

If v_1 is the actual volume of the reaction chamber (total volume inside the heating block, less the volume occupied by the part of the sample holder which was inside the reaction chambet) at T_1 (absolute temperature), v_2 the volume in which the temperature falls from T_1 to room temperature T_2; and v_3 the volume which is at room temperature, a *virtual volume*, *V*, can be calculated for each reaction temperature according to the equation:

$$V = v_1 + v_2 \frac{2\,T_1}{T_1 + T_2} + v_3 \frac{T_1}{T_2}.$$

V would be the volume of the gas, if *all* parts of the apparatus were at the temperature T_1. Owing to the relative smallness of v_2 and v_3, changes in room temperature were neglected and T_2 was taken as 293° *K*. From *V* and the experimental values of pressure and temperature, all other data can easily be calculated.

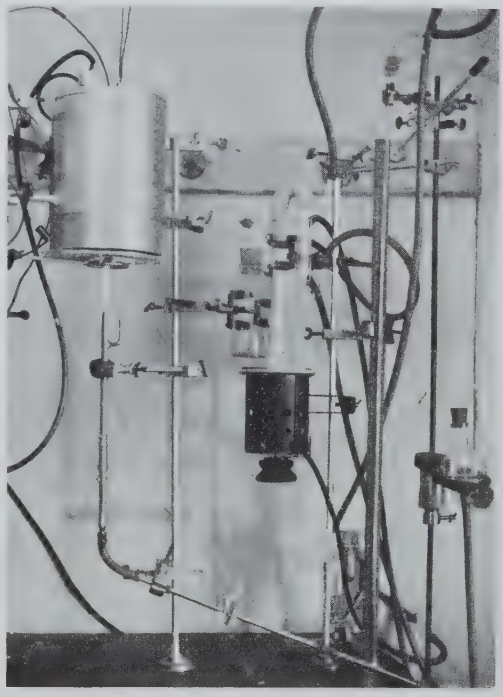


Fig. 2.—View of the apparatus.

Remarks. The apparatus described can be used up to a pressure of about 400 mm and by lengthening of the measuring arm *K*, up to 900 mm.

Magnifying glasses were used to facilitate the adjustment of the mercury level in *H* to *L*, and the reading of the pressure in *K*. Thus, the experimental error was limited to ±0·25 mm.

By filling the side arm *H* above *L* not with glass pieces, but some specific adsorbent, one can adapt the apparatus to the study of reactions of the type

$$A_{(\text{solid})} + B_{(\text{gas})} = C_{(\text{gas})}.$$

For instance the reaction $C + O_2 = CO_2$, although not accompanied by any change of pressure, can be followed if the side arm *H* is filled with ascarite. In this case, the apparatus is filled with air or oxygen and the *fall* of the pressure measured as the carbon dioxide produced is absorbed by the ascarite.

Acknowledgment. This paper originates from a study carried out under the auspices of the Scientific Department of the Israeli Ministry

of Defence, and is published with its permission. The author is indebted to Dr. E. D. Bergmann of the Weizmann Institute of Science, Rehovoth, for valuable comments and suggestions.

S. Patai

Department of Organic Chemistry, Hebrew University, Jerusalem, November 12, 1951.

Zusammenfassung

Ein Apparat für manometrische Messungen von Druckänderungen bei hohen Temperaturen unter konstanten Volumbedingungen wird beschrieben. Die Substanz wird in die Reaktionskammer mit Hilfe eines Schwimmers eingeführt, der durch Änderung eines Quecksilberniveaus betätigt wird. Während der Messung wird das Quecksilberniveau konstant gehalten, und die Druckänderung wird auf einem besonderen Messungsarm des Manometers abgelesen. Die Konstruktion des Apparates ist einfach, das tote Volumen wird auf Minimum gehalten, und die Berechnung der Resultate ist leicht.

PRO EXPERIMENTIS

Zur Technik der intravitalen Phasenmikroskopie

Die wesentlichen Vorteile des Phasenmikroskops können nur bei Untersuchungen *lebender* Zellen voll ausgenützt werden. Bisher beschränkte man sich weitgehend auf die Beobachtung von Einzellern, künstlich separierten Einzelzellen und kleinen Zellverbänden sowie von Zellkulturen und erzielte damit wesentliche neue Einblicke[1]. Es schien uns jedoch besonders verlockend, die Zellen in ihrem natürlichen Milieu in voller Abhängigkeit von Blutzufuhr, Nerveneinflüssen, Hormonen und Enzymen, also im Gewebsverband, zu untersuchen. Als besonders geeignetes Objekt wählten wir das Mesenterium der Ratte, doch setzt seine Verwendung zwei technische Spezialeinrichtungen voraus, über welche *ad usum alterorum* im folgenden berichtet werden soll.

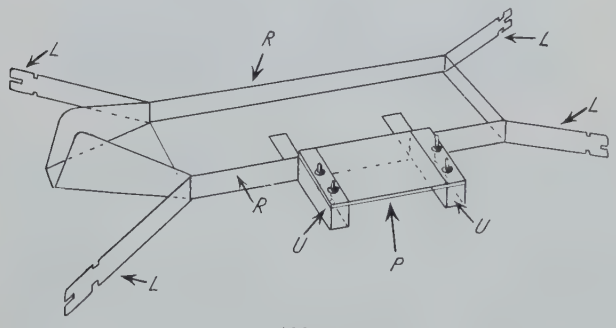


Abb. 1.

Wird das Mesenterium der narkotisierten, in Rückenlage befestigten Ratte mitsamt den dazugehörigen Darmschlingen aus einem seitlichen Operationsschnitt herausgezogen, so muß es auf einer gegenüber der Auflagefläche des Versuchstieres erhöhten Plattform ausgelegt werden, da sonst die Gefäße zu stark stranguliert werden. In Abbildung 1 ist ein einfaches Aufspanngerät für derartige Versuche wiedergegeben. Es läßt sich aus dünnen Plastikplatten aussägen und mit Hilfe von Eisessig zusammenfügen. Die erhöhten seitlichen Ränder (R) verhindern die Beschmutzung des Mikroskops durch abtropfendes Blut und Spülflüssigkeit. Die abstehenden Leisten (L) dienen zur Fixierung der Extremitäten. Seitlich ist die erhabene Beobachtungsplattform (P) angebracht, deren Höhe durch anschraubbare Unterlageblöcke (U) von unterschiedlicher Höhe variabel ist. Nach Ausspannen des Tieres und Ausbreiten des Mesenteriums auf der Plattform kommen die Unterlageblöcke (U) zwischen die Klemmen des Kreuztisches zu liegen, das Tier selbst ist vom Beobachter abgewendet (siehe Abb. 2). Zur Untersuchung mit Ölimmersion wird ein Deckglas mit geschützten Rändern auf das Mesenterium gelegt, eventuell nach Beifügen von physiologischer Kochsalzlösung.

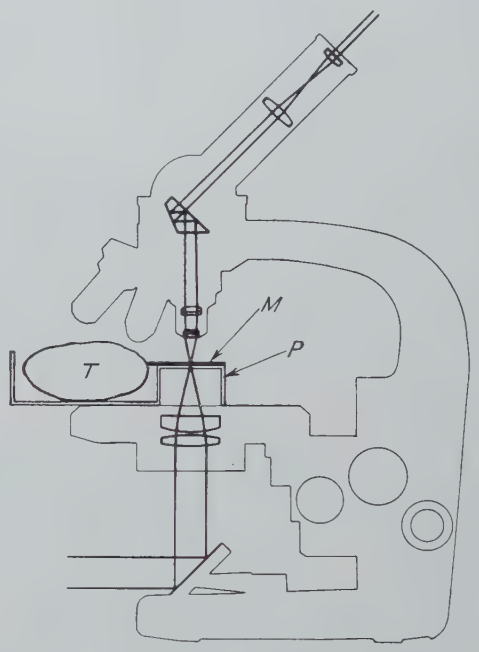


Abb. 2.

Die relative Dicke des Objektes verlangt ein Objektiv mit relativ großem Arbeitsabstand. Wir verwenden mit Vorteil das Ph HI 85 von Wild, welches überdies ganz ausgezeichnete Kontraste liefert.

Ein weiteres Problem stellt die Beleuchtung dar, denn die üblichen Phasenkondensatoren arbeiten mit Kondensorfrontlinsen-Objektiv-Abständen von wenigen Millimetern, während die vorliegende Versuchsanordnung zwangsläufig viel größere Abstände voraussetzt. Ohne korrekte Köhlersche Beleuchtungsanordnung läßt sich jedoch keine erfolgreiche phasenoptische Beobachtung durchführen. Auf unsere Anregung hat die Firma Wild (Heerbrugg) einen Spezialkondensor mit hohem optischem Schnittpunkt ausgearbeitet, der besonders auch für Arbeiten mit Zellkulturen geeignet sein dürfte. Abbildung 2 zeigt den Strahlengang bei aufgesetzter Beobachtungsplattform (P). T = Versuchstier im Querschnitt, M = Mesenterium. An Stelle des Blendenrevolvers sind Hülsenblenden gewählt worden, welche auch den Phasenobjektiven anderer Fabrikate angepaßt werden können. Die Lichtausbeute des Lichtkondensors ist ausgezeichnet; wir arbeiten mit den selben photographischen Belichtungszeiten wie mit den üblichen Phasenkondensoren. – Die beschriebene Versuchsanordnung erlaubt auch die kinematographische Verfolgung schnell ablaufender Vor-

[1] Rev. hématol. *5*, 696 (1950).

gänge, was beim lebenden Objekt ja besonders reizvoll ist. Voraussetzung dazu ist die Wahl einer sehr starken Lichtquelle (Zirkon- oder Kohlenbogenlampe).

H. U. Zollinger

Pathologisches Institut der Universität Zürich, den 30. Oktober 1951.

Summary

A description is given of a stage which permits the intravital observation of the mesenterium in the living rat under oil immersion. For this type of experiment a special condensor with long distance focus is produced by Wild AG. The arrangement makes microcinematography with normal speed possible.

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Funktionentheorie

Von Constantin Carathéodory

Band I: 288 Seiten mit 33 Abbildungen
(brosch. Fr. 35.35, geb. Fr. 39.50)
Band II: 194 Seiten mit 73 Abbildungen
(brosch. Fr. 22.90, geb. Fr. 27.05)
(Verlag Birkhäuser AG., Basel 1950).

Carathéodory hat einmal in einer Besprechung der Bieberbachschen Funktionentheorie treffend geschrieben, daß es wohl eine reizvolle Aufgabe wäre, die verschiedenen Lehrbücher, die im Laufe der letzten siebzig Jahre auf diesem Gebiet geschrieben worden sind, zu vergleichen. «Denn diese geben uns nicht nur Aufschluß über diejenigen Kapitel der Funktionentheorie, die nacheinander im Mittelpunkt der Forschung gestanden haben, sondern vor allem auch über den Wandel in der Geschmacksrichtung bei der Pflege dieser Disziplin.»

Diese Sätze könnten wohl auf kein anderes Buch besser passen als auf das vorliegende Werk von Carathéodory selbst, und zwar nicht bloß, was den Wandel des allgemeinen Geschmacks, sondern auch was den Einfluß des persönlichen Geschmacks bei der Darstellung einer mathematischen Disziplin anbetrifft.

In der Tat bricht das Buch des großen Mathematikers mit der in Deutschland üblichen Tradition so – zum Beispiel wird die Weierstraßsche Auffassung des Begriffs der analytischen Funktion gänzlich außer acht gelassen –, daß der Leser im Anfang durch die Eigentümlichkeit des Aufbaues etwas befremdet wird. Daß natürlich dieses Gefühl bei näherer Beschäftigung mit dem Buch nicht lange anhält und sich bei der großen Souveränität der Darstellung rasch in Bewunderung verwandelt, ist für den Kenner Carathéodoryscher Bücher leicht begreiflich.

Die Erkenntnis, daß die Geometrie der Ebene konstanter Krümmung einen tiefen Einblick in die Zusammenhänge der Funktionentheorie gestattet, ist alt und geht vorerst auf die Arbeiten von Schwarz, Klein und Poincaré zurück. Jedoch erst in der neueren Zeit feiert diese Einsicht ihre durchschlagenden Erfolge.

Dieser Glaube nun, daß die sphärische und hyperbolische Geometrie der Ebene als eine Art Prolegomena zu jeder künftigen Funktionentheorie gehören, veranlassen Carathéodory gleich zu Anfang zu einer Entwicklung der Kreisgeometrie der komplexen Ebene. Daß diese Entwicklung etwas ausführlich geschieht, ist nicht verwunderlich, wenn man bedenkt, daß Carathéodory stets unter dem Eindruck gestanden hat, daß die Erfolge von Schwarz in der Funktionentheorie auf dessen virtuoser Beherrschung der Kreisgeometrie beruhten.

Neben der Entwicklung der Grundlagen der Punktmengentheorie und der topologischen Vorkenntnisse, die in einem der eigentlichen Funktionentheorie vorangehenden Kapitel äußerst sorgfältig auseinandergesetzt werden, muß die starke Berücksichtigung der Theorie der normalen Familien von Montel besonders begrüßt werden. Es gelingen nämlich mit ihrer Hilfe nicht nur einfache, auf eine gemeinsame Grundlage aufgebaute Beweise vieler Sätze, sondern auch eine meisterhafte Zusammenfassung vieler Gebiete, bei denen Grenzprozesse verwandt werden, zu einem einheitlichen Gebäude. Etwas ungewöhnlich schließt der erste Band, der wohl den elementaren Teil der Funktionentheorie enthält, mit einem Kapitel über die Bernoullischen Zahlen und die Gammafunktion, deren Theorie im wesentlichen im Anschluß an den wichtigen Satz von Bohr und Mollerup entwickelt wird.

Genau wie in der Bieberbachschen Funktionentheorie kommt auch bei der Carathéodoryschen im zweiten Band der persönliche Geschmack des Verfassers stärker zum Vorschein. Hier werden die großen Fragenkomplexe der Theorie der beschränkten Funktionen, der konformen Abbildung und des Picard-Landauschen Satzes behandelt. Während bei der Darstellung des ersten Fragenkomplexes die schon im ersten Band entwickelte Kreisgeometrie ausgezeichnete Dienste leistet, hilft die ebenfalls dort entwickelte Theorie der normalen Familien zu einem raschen Abschluß des Riemannschen Hauptsatzes über die Abbildung beschränkter Gebiete. Hier zieht Verfasser im Gegensatz zu seinem bekannten Buch «Conformal Representation» dem dort abstrakter gebrachten Existenzbeweis die Verwendung von Iterationsprozessen vor. Mit großer Gründlichkeit wird im Anschluß an den Riemannschen Abbildungssatz die Gruppe der Decktransformationen der Abbildungsfunktion studiert und ihr Zusammenhang mit der nichteuklidischen Geometrie entwickelt. Obwohl Verfasser bei der Frage der Abbildung des Randes nicht so weit vordringt wie in seinen berühmten Abhandlungen, so reicht der hier dargebrachte Stoff für ein Lehrbuch vollkommen aus. Am Ende des zweiten Bandes nutzt Carathéodory, bestärkt durch seine Liebe zur Kreisgeometrie, den Fragenkomplex des Picard-Landauschen Satzes aus, um eine vollständige Darstellung der Schwarzschen Dreiecksfunktion zu geben. Dieser Weg, obwohl nicht der kürzeste, bringt den Studierenden mit einer Fülle wichtiger und interessanter Resultate in Berührung.

In beiden Bänden kommt das Originelle Carathéodorys fast in jeder Seite zum Ausdruck. Carathéodory gehört wohl zu jenen glücklichen, schöpferischen Forschernaturen, die eine Disziplin so weit förderten, daß eine bloße Beschäftigung mit deren Arbeiten vollkom-

men genügt, um sich einen erheblichen Teil dieser Disziplin anzueignen. Menschlich kann Carathéodory auch deswegen als glücklich gepriesen werden, weil es ihm vom Schicksal gegönnt war, an dem Gebäude seiner unvergänglichen Schöpfungen selbst den Schlußstein setzen zu können.

Ein letztes geistiges Denkmal dieses großen Mathematikers, für den das Leben ein ununterbrochenes Forschen nach der Wahrheit war. A. Dinghas

Urgeschichte der Schweiz

Von Otto Tschumi
I. Band, 751 Seiten mit 282 Abbildungen, 11 Kunstdruckbildern, 2 Karten und 2 Tabellen
(Verlag Huber & Co., Frauenfeld 1949) (Fr. 64.—)

Die Urgeschichte ist durch ihr dem Boden entnommenes Dokumentenmaterial mit den Naturwissenschaften vielfältig verbunden. Eine methodologische Untersuchung würde den Umfang naturwissenschaftlicher Begriffsbildung und Denkart in der Urgeschichte – zum Beispiel in der Benutzung der Tschulokschen Kategorien des Systems der Biologie – erweisen, speziell in der Erforschung und Darstellung der älteren Perioden, denen die historische Persönlichkeit und ihre Tat (als ein Hauptanliegen «echter» Geschichtsschreibung) fehlt.

Es war von jeher das besondere Bestreben von O. Tschumi, die Zusammenarbeit von Urgeschichte und Naturwissenschaften zu organisieren und beidseitig fruchtbar zu gestalten. Der 1. Band des großangelegten Werks will daher «eine naturwissenschaftlich unterbaute Urgeschichte der Schweiz» sein, sind doch von 727 Seiten Text deren 406 den naturwissenschaftlichen «Hilfsdisziplinen» zugeteilt; selbst petrographische Methoden (an Steinwerkzeugen, Th. Hügi) und chemische Bodenuntersuchungen (W. Rytz jun.) kommen zur Geltung.

Kurz, aber präzis und ausreichend erörtert H. Bächler die geologischen Grundlagen urgeschichtlicher Zeitrechnung. Aus den Vegetationsverhältnissen der prähistorischen Perioden entwickelt W. Rytz in ausführlicher Darstellung die drei Hauptthemata urgeschichtlicher Botanik: die Methodik und bisherigen Ergebnisse der pollenanalytischen Forschung und Chronologie, die wirtschaftliche Benutzung der Pflanzenwelt und die immer noch so problemreiche Frage der Entstehung und Herkunft der Kulturpflanzen. Im Abschnitt «Tierwelt» bauen K. Hescheler† und E. Kuhn im Charakter einer besondern Monographie aus dem großen zoologischen Fundmaterial, entsprechend den vorherrschenden Knochenresten, im wesentlichen eine historische Säugetierzoologie der Schweiz seit dem jüngern Tertiär auf. Im paläontologischen Entwicklungsgang, sehr instruktiv illustriert und reich dokumentiert durch die vielen allseitig diskutierten Grabungsberichte, kommt die große urgeschichtliche Wandlung von der gejagten Wildfauna zur Dominanz der gezüchteten Haustierwelt eindrücklich zur Geltung. Als «Anthropologie der Steinzeit der Schweiz» schildert O. Schlaginhaufen mit aller Präzision moderner anthropologischer Meßkunst die aus dem nicht reichen, oft (Gesichtsteile!) fragmentären Schädel- und Skelettmaterial erkennbare Körperlichkeit des schweizerischen «Urmenschen», in vorsichtiger Zurückhaltung die heute möglichen Schlüsse über Typologie und Herkunft skizzierend.

Im großen Hauptabschnitt «Die steinzeitlichen Epochen» gibt O. Tschumi (mit Beiträgen von H. Bächler und J. Pokorny) eine zusammenfassende, gut bebilderte Darstellung der vielgestaltigen Fundstellen und materiellen Kulturgüter der von ihm unterschiedenen vier Steinzeiten. Wichtige neue Forschungsergebnisse der letzten Jahrzehnte, verfeinerte stratigraphische Untersuchungsmethoden vermögen ein viel reicheres Bild der paläolithischen und besonders neolithischen Zeitalter zu geben, während die etwa 2000jährige Übergangszeit des Mesolithikums erst allmählich aus schweizerischem Material sich erhellt und zu weiterem sorgfältigkritischem Suchen verpflichtet. Vorsichtig wird auch die psychologische Deutung, die Erlebnisweise des Frühmenschen, aus entsprechendem Kulturgut entwickelt, bis zur Diskussion der gerade im Paläolithikum bewundernswerten Höhlenkunst und der Uranfänge religiösen Lebens.

Das in mancher Beziehung «Grund legende» Handbuch enthält rund 300 fast durchwegs vorzügliche Illustrationen und umfangreiche Literaturverzeichnisse; es wird auch dem interessierten Naturwissenschafter unentbehrlich sein. W. Küenzi

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

STUDIORUM PROGRESSUS

Die Ursachen der tierischen Regeneration

Von Martin Lüscher[1], Basel

Die Entdeckung der Regeneration des Süßwasserpolypen *Hydra* durch A. Trembley im Jahre 1741[2] hat in der damaligen Zeit sehr großes Aufsehen erregt und in den kommenden Jahren zu einer intensiven Bearbeitung des Regenerationsproblems bei den verschiedensten Tieren geführt. Schon nach kurzer Zeit hatte man festgestellt, daß die verschiedensten Tiere, wie Würmer, Schnecken, Krebse, Molche und Kaulquappen, Regenerationsfähigkeit besitzen, daß aber diese Fähigkeit keineswegs allen Tieren zukommt und daß oft nahe verwandte Formen sehr verschiedene Regenerationsfähigkeit haben. Schon aus dieser Feststellung ergibt sich *die Frage, ob nicht prinzipiell alle Tiere Regenerationsfähigkeit besitzen* und ob sie nicht in vielen Fällen durch andere Mechanismen verdeckt ist. Diese Frage steht in der neuesten Zeit wieder im Vordergrund des Interesses, nachdem es gelungen ist, adulte Frösche, die normalerweise nicht regenerationsfähig sind, zur Beinregeneration zu veranlassen. Dieses Ergebnis läßt die Hoffnung aufkommen, daß es uns auch gelingen wird,

[1] Zoologische Anstalt der Universität Basel.

[2] Trembleys Entdeckung wurde 1741 an Réaumur mitgeteilt, der sie bereits 1742 nachprüfte. Erst 1744 erfolgte die Publikation in *Mémoire pour servir à l'histoire d'une gendre de polypes* (Paris).

die Regenerationsfähigkeit bei andern Tieren zu erwekken, was allerdings nur dann Aussicht auf Erfolg hat, wenn wir einmal das Wesen der Regeneration erkannt haben, das heißt, wenn wir wissen, warum ein Tier regeneriert bzw. warum ein anderes Tier nicht regenerieren kann.

Jeder Regenerationsvorgang ist durch drei aufeinanderfolgende Phasen charakterisiert: die Blastembildungs-, die Wachstums- und die Differenzierungsphase. Die Blastembildung erfolgt nach vollzogener Wundheilung und besteht in einer Ansammlung von morphologisch undifferenzierten Zellen unter dem Wundepithel. Bei den Süßwasserpolypen und Planarien entsteht das Blastem durch Zuwanderung von undifferenzierten, gewissermaßen embryonal gebliebenen Ersatzzellen (Regenerationszellen oder Neoblasten). Bei den Amphibien werden die lokalen Gewebe in der Amputationszone entdifferenziert, wobei sich am Aufbau des Blastems auch wenig differenzierte Bindegewebszellen beteiligen. Auf die Blastembildung folgt die Wachstumsphase, in der sich die Zellen des Blastems lebhaft teilen, was ein rasches Auswachsen des Regenerates zur Folge hat. Die Wachstumsphase wird abgelöst durch die Differenzierungsphase, in der sich die undifferenzierten Zellelemente zu den verschiedenen Gewebezellen umbilden, wobei meist ihre Teilungsfähigkeit verlorengeht.

Wachstum und Differenzierung verlaufen bei jedem Entwicklungsvorgang prinzipiell gleich. Die Blastembildung aber ist charakteristisch für die Regeneration, und mit der Fähigkeit zur Blastembildung besitzt ein Tier auch Regenerationsfähigkeit.

Fragen wir nun nach den *Ursachen der Blastembildung und Regeneration*, so sind vor allem diejenigen Methoden interessant, durch die die Regeneration experimentell gehemmt oder gefördert werden kann. Dabei ist es besonders wichtig, zu erfahren, welche Prozesse im Regenerationsgeschehen durch die einzelnen Methoden beeinflußt werden.

Die experimentelle Hemmung oder Verhinderung der Regeneration

Durch verschiedenartige Eingriffe kann die Regeneration gehemmt oder völlig verhindert werden.

1. Durch *Resektion der Nerven* kann die Beinregeneration bei Molchen und Salamandern völlig verhindert werden[1]. Beim adulten Molch *Triturus* kann die Beinregeneration nur dann zustande kommen, wenn pro Flächeneinheit des Amputationsquerschnitts eine bestimmte, konstante, minimale Anzahl von Nervenfasern vorhanden ist, gleichgültig, ob es sich um motorische, sensible oder sympathische Fasern handelt[2]. Diese Feststellung scheint darauf hinzuweisen, daß der Einfluß des Nervensystems auf die Regeneration nicht ein spezifischer, sondern ein rein trophischer ist.

In der amputierten nervenlosen Extremität junger Salamanderlarven tritt die Entdifferenzierung der Stumpfgewebe normal ein, doch wird sie nicht abgebremst und geht unaufhaltsam weiter. Dadurch kann keine Blastembildung zustande kommen. Wird dagegen im gleichen Fall erst nach der Blastembildung denerviert, so wird die Regeneration nicht aufgehalten. Hier liegt also die Rolle des Nervensystems darin, daß es die Entdifferenzierung abbremst und das Wachstum einleitet[3].

Beim adulten Molch liegen andere Verhältnisse vor, indem die Entdifferenzierung im nervenlosen Beinstumpf unterbleibt. Unter dem Einfluß von Kochsalzlösung kann sie jedoch auch im nervenlosen Bein hervorgerufen werden, doch erfolgt dann ohne vorheriges Wachstum sehr rasch wieder Differenzierung. Die Rolle des Nervensystems scheint in diesem Falle darin zu liegen, daß das Gleichgewicht zwischen Wachstum und Differenzierung zugunsten des Wachstums verschoben wird[1]. Sehr merkwürdig ist die Tatsache, daß transplantierte Beine auch ohne Beteiligung des Nervensystems zu regenerieren vermögen[2], daß also die Transplantation den gleichen Effekt haben kann wie normalerweise das Nervensystem. Im transplantierten Bein erfolgt eine sehr weitgehende Entdifferenzierung[3], und damit wird wohl das Eintreten des Wachstums vor Beginn der Neudifferenzierung begünstigt.

Da für das Zustandekommen der Regeneration nur die Quantität, nicht aber die Qualität der Nervenfasern maßgebend ist, da die Wirkung des Nervensystems durch andere Mechanismen ersetzt werden kann, und da schließlich das Nervensystem für die Schwanzregeneration bei Anuren und für viele andere Regenerationsvorgänge ohne Bedeutung ist, darf man eine rein trophische Wirkung auf die Einleitung der Wachstumsphase, nicht aber eine regenerationsspezifische Wirkung des Nervensystems annehmen.

2. Durch *Hypophysektomie* werden adulte Molche regenerationsunfähig[4]. Bei Molchlarven hat jedoch die gleiche Operation keinen Einfluß auf die Regeneration. Auch die Hypophyse scheint demnach eine trophische Wirkung zu besitzen, doch ist der Wirkungsmechanismus im einzelnen noch nicht geklärt. Thyreoidektomie hat keinen Einfluß auf die Regeneration von Molchlarven[4]. Die Bedeutung anderer innersekretorischer Organe wurde nicht untersucht.

3. Durch *Röntgenstrahlung* kann die Regeneration bei den verschiedensten Tieren unterdrückt werden[5]. Die Wirkung der Röntgenstrahlen ist bei Amphibien irreversibel; eine bestrahlte Extremität bleibt dauernd regenerationsunfähig. Dabei ist die Wirkung streng lokal. Wird beispielsweise eine Extremität nur am Ellbogengelenk bestrahlt, so unterbleibt die Regeneration, wenn innerhalb der bestrahlten Zone amputiert wird, dagegen wird normal regeneriert, wenn die Amputation ober- oder unterhalb dieser Zone durchgeführt wird. Die Entdifferenzierung und Blastembildung scheint durch die Röntgenstrahlung nicht beeinflußt zu werden. Sobald aber das Wachstum einsetzen sollte, erfolgt eine Degeneration des Regenerationsstumpfes. Die Wirkung der Röntgenstrahlen beruht wohl auf einer Herabsetzung des Zellteilungsvermögens und betrifft somit nur die Wachstumsphase in der Regeneration.

4. Durch *Behandlung mit Colchicin* oder andern Zellteilungsgiften läßt sich die Regeneration bei Amphibien hemmen oder vollständig unterdrücken[6]. Wie bei Röntgenbestrahlung wird auch bei Colchicinbehandlung nur die Wachstumsphase beeinflußt. Die Blastembildung erfolgt normal. Während der Wachstumsphase aber

[1] G. Wolff, Festschr. Richard Hertwig, Jena *3*, 67 (1910). – O. Schotté, Rev. suisse Zool. *33*, 1 (1926).

[2] M. Singer, J. exper. Zool. *101*, 299 (1946); *104*, 223, 251 (1947).

[3] O. Schotté und E. G. Butler, J. exper. Zool. *87*, 279 (1941); *97*, 95 (1944). – E. G. Butler und O. E. Schotté, J. exper. Zool. *112*, 361 (1949).

[1] M. P. Oliver und S. M. Rose, Anat. Rec. *96*, 28 (1946). – S. M. Rose, Ann. New York Acad. Sci. *49*, 818 (1948).

[2] L. W. Polejaiew, C. r. Dokl. Acad. Sci. U.R.S.S. *25*, 543 (1939). – G. Schneider, Zool. Jb. Abt. allg. Zool. Physiol. *60*, 73 (1940).

[3] L. W. Polejaiew und G. I. Ginzburg, C. r. Dokl. Acad. Sci. U.R.S.S. *23*, 733 (1939).

[4] O. Schotté, C. r. Soc. Biol. Paris *94*, 1177 (1926).

[5] V. V. Brunst, Quart. Rev. Biol. *25*, 1 (1950). – F. Dubois, Bull. biol. France Belgique *83*, 213 (1949). – W. O. Puckett, Biol. Bull. *70*, 392 (1936).

[6] M. Lüscher, Helv. physiol. acta *4*, 465 (1946).

werden die meisten Mitosen blockiert, und die betroffenen Zellen gehen zugrunde. Die Wirkung des Colchicins ist nur von kurzer Dauer: 4 bis 5 Tage nach einer Kurzbehandlung von 20 min in einer Colchicinlösung 1:2000 ist eine *Xenopus*larve wieder regenerationsfähig, doch erfolgt jetzt eine Regeneration nur dann, wenn erneut amputiert wird, das heißt, wenn dem Tier erneut eine Wunde beigebracht wird. Für die Auslösung der Regenerationsprozesse ist also nicht das Fehlen des Organs maßgebend, sondern das Vorhandensein einer Wunde.

5. Durch *Überdecken der frischen Amputationswunde mit Epidermis* kann die Regeneration ebenfalls verhindert werden[1]. Wird die gleiche Operation einen Tag nach der Amputation durchgeführt, so kann die Regeneration nicht mehr aufgehalten werden. Auch dieser Versuch weist auf die Bedeutung der Wunde für die Auslösung der Regeneration hin. Wenn die Wundheilung verfrüht erfolgt, so unterbleibt die Regeneration. Wir haben dann die gleiche Situation vor uns wie nach Colchicinbehandlung nach dem Aufhören der Colchicinwirkung. Das Tier ist an sich regenerationsfähig, doch ist trotz dem Fehlen des Organs der Stimulus, der die Regenerationsprozesse einleitet, nicht vorhanden. Dieser Stimulus geht offenbar von der offenen Wunde aus.

6. Durch *atmungshemmende Stoffe*, wie KCN, wird die Regeneration bei Planarien gehemmt[2]. Dies beruht wahrscheinlich auf einer Hemmung des Zellwachstums und der Zellteilung und betrifft somit die Wachstumsphase, während der die Gewebeatmung normalerweise stark erhöht ist.

Die experimentelle Förderung der Regeneration

Eine experimentelle Beschleunigung der Regeneration konnte bisher nur in wenigen Fällen erzielt werden.

1. Durch *Embryonalextrakt* wird die Regeneration beschleunigt[3]. Dies ist wohl auf eine Stimulierung des Zellwachstums und der Zellteilungen zurückzuführen, und seitdem wir wissen, daß der in Gewebekulturen wirksame Bestandteil des Embryonalextraktes Ribonukleinsäure[4] und das Regenerationsblastem auch normalerweise sehr reich an Ribonukleinsäure ist[5], dürfen wir wohl vermuten, daß dieser Stoff auch im normalen Regenerationsgeschehen die Mitosephase einleitet und unterhält, mindestens stimuliert, um so mehr als bei Hungertieren, die nur langsam regenerieren, der Gehalt an Ribonukleinsäure im Zytoplasma stark herabgesetzt ist.

2. Durch *Methylenblau und andere Oxydationsmittel*, die wohl atmungsfördernd sind, wird die Regeneration bei Planarien beschleunigt[6]. Auch diese Wirkung dürfte die Wachstumsphase betreffen, jedoch nicht regenerationsspezifisch sein.

3. Durch *Reamputation* 2 bis 4 Tage nach der ersten Amputation kann die Schwanzregeneration bei *Xenopus*larven erheblich beschleunigt werden[7]. Die Reamputation erfolgt hier in dem Zeitpunkt, in dem die Blastembildung beendet ist und die Wachstumsphase beginnt, also in einer Zeit, in der ein wachstumstimulierender Faktor wirksam sein muß. Nach der erneuten Amputation bleibt dieser Faktor anscheinend latent im Gewebe erhalten, bis das neue Regenerat wachstumsbereit ist, denn die Beschleunigung der Regeneration macht sich erst am dritten Tag nach der Reamputation bemerkbar.

Die Auslösung der Regeneration bei normalerweise nicht regenerierenden Tieren

Wohl das wichtigste Ergebnis der modernen Regenerationsforschung liegt darin, daß es verschiedenen Autoren in Rußland und in den USA. gelungen ist, Tiere, die normalerweise nicht mehr regenerationsfähig sind, nämlich adulte Froschlurche (Anuren), zur Beinregeneration zu veranlassen. Bei den Anuren geht die Fähigkeit zur Beinregeneration während der Metamorphose verloren. Dieser Verlust der Regenerationsfähigkeit beruht nicht auf einer Veränderung des inneren Milieus, sondern auf Veränderungen, die das Organ selbst betreffen[1]. Eine Krötenextremität, in die Beingegend einer Salamanderlarve transplantiert, verliert ihre Regenerationsfähigkeit während der Metamorphose derselben, doch behält eine Salamanderextremität auch an der adulten Kröte ihre Regenerationsfähigkeit bei.

Nun ist es gelungen, experimentell adulte Frösche zur Beinregeneration zu veranlassen. Die Methoden sind mechanische, die vor allem eine Traumatisierung des Wundgewebes zur Folge haben[2], sowie die Behandlung mit chemischen Agenzien[3]. Die Beinregeneration kann veranlaßt werden durch Entfernung der Haut des Regenerationsstumpfes[4], durch starke Verletzung des Gewebes des Regenerationsstumpfes (Traumatisierung)[5], durch Transplantation und darauffolgende Amputation[5], durch fortgesetzt periodisch seit der Larvenperiode immer wieder durchgeführte Amputation der gleichen Extremität[5] und schließlich mit bestem Erfolg durch Anlegen einer Ligatur am Oberarm und Amputation distal derselben nach Eintreten der ersten nekrotischen Veränderungen[5]. Diese Methoden bewirken alle eine starke Traumatisierung und eine starke Entdifferenzierung der Gewebe der Wundzone. Sie bewirken dadurch alle auch ein längeres Offenbleiben der Wunde, wodurch wiederum die Entdifferenzierung gefördert werden dürfte. Interessant sind auch die chemischen Methoden der Auslösung der Regeneration bei Fröschen. Besonders Glukose[5] und Kochsalzlösung[3] haben einen stimulierenden Effekt, aber auch Jodlösung und Salpetersäure vermögen die Regeneration auszulösen[5]. Alle diese Behandlungen haben dieselben histologischen Veränderungen der Stumpfgewebe zur Folge: Entzündung und teilweise Nekrose und starke Entdifferenzierung. Auch hier bleibt die Wunde länger offen, während sie normalerweise bei adulten Fröschen besonders rasch verheilt. Im Grunde haben alle hier erwähnten regenerationsstimulierenden Methoden dieselben Folgen: Entdifferenzierung und Verhinderung einer raschen Wundheilung, wobei diese beiden Folgen wohl voneinander abhängen. Durch langes Offenbleiben der Wunde wird die Entdifferenzierung ermöglicht, und durch eine provozierte Entdifferenzierung wird die Wundheilung verzögert. Da aber die Entfernung der Haut des Regenerationsstump-

[1] E. Godlewski, Roux' Arch. *114*, 108 (1928).
[2] O. Rulon, Physiol. Zool. *11*, 202 (1938). – S. Wolsky, Allat. Közlem. *38*, 9 (1941).
[3] B. D. Morosow, Roux' Arch. *133*, 310 (1935).
[4] A. Fischer, *The Biology of Tissue Cells* (Cambridge, New York und Kopenhagen 1946).
[5] H. Clément-Noël, Ann. Soc. Roy. Zool. Belg. *75*, 25 (1944).
[6] O. Rulon, Physiol. Zool. *11*, 202 (1938).
[7] M. Lüscher, Helv. physiol. acta *4*, 465 (1946).

[1] E. Guyénot, Rev. suisse Zool. *34*, 1 (1927).
[2] L. W. Polezhayev, C. r. Dokl. Acad. Sci. U.R.S.S. *1*, 673 (1935); *48*, 216 (1945); *54*, 281 (1946); Biol. Rev. *21*, 141 (1946).
[3] L. W. Polezhayev, C. r. Dokl. Acad. Sci. U.R.S.S. *1*, 673 (1935); *48*, 216 (1945), *54*, 281 (1946); Biol. Rev. *21*, 141 (1946). – S. M. Rose, J. exper. Zool. *95*, 149 (1944); J. Morph. *77*, 119 (1945).
[4] S. M. Rose, J. exper. Zool. *95*, 149 (1944); J. Morph. *77*, 119 (1945).
[5] L. W. Polezhayev, C. r. Dokl. Acad. Sci. U.R.S.S. *1*, 673 (1935); *48*, 216 (1945); *54*, 281 (1946); Biol. Rev. *21*, 141 (1946).

fes und damit primär eine Verzögerung der Wundheilung genügt, um die Regeneration auszulösen, ist es naheliegend, anzunehmen, daß die Regeneration des adulten Anurenbeins normalerweise durch eine zu rasch erfolgende Wundheilung verunmöglicht wird, gerade so, wie die Regeneration des Axolotlschwanzes experimentell dadurch unterdrückt werden kann, daß die frische Wunde mit Epidermis überdeckt und damit eine verfrühte Wundheilung herbeigeführt wird. Die Versuche zeigen einerseits, daß ein regenerationsunfähiges Tier auch Regenerationsfähigkeit besitzen kann, und andrerseits, weshalb diese Regenerationsfähigkeit normalerweise verdeckt ist, und damit weisen sie wiederum auf die Bedeutung der offenen Wunde für die Auslösung der Blastembildung bzw. der ersten Regenerationsprozesse hin.

Die Ursachen der Blastembildung

Aus den geschilderten Versuchen ergibt sich, daß die ersten Regenerationsprozesse, die Entdifferenzierung und die Ansammlung undifferenzierter Zellen in Form eines Blastems, durch Einflüsse, die von der offenen Wunde ausgehen, eingeleitet werden. Dies gilt nicht nur für Amphibien, sondern auch für Planarien und Insekten, bei denen das Blastem durch Zuwanderung undifferenzierter bzw. wenig differenzierter Zellen gebildet wird. Bei Planarien kann die Wanderung der Regenerationszellen oder Neoblasten nur durch eine offene Wunde ausgelöst werden[1]. Bei den Insekten wird das Blastem aus den umliegenden Hypodermiszellen aufgebaut. Bei ihnen wird die Zuwanderung oder Zusammenscharung der Hypodermiszellen ebenfalls durch die offene Wunde bewirkt[2]. Wird ein Teil der Hypodermis durch Brennung abgetötet, so hat dies keine Zuwanderung von Hypodermiszellen zur Folge. Nur die mechanische Verletzung hat diesen Effekt.

Die Frage, in welcher Weise die offene Wunde die Blastembildung einleiten kann, kann heute noch nicht mit Sicherheit beantwortet werden. Es kann sich nicht um eine Wirkung über das Nervensystem handeln, da sehr viele Tiere ohne das Vorhandensein von Nerven in der Amputationszone zu regenerieren vermögen. Da es sich meist um Wassertiere handelt, hat man an eine Konzentrationsänderung des inneren Milieus, das heißt an eine osmotische Wirkungsweise, gedacht. Die Körperflüssigkeit wird durch die direkte Verbindung mit dem Umgebungswasser verdünnt, und in Zusammenhang damit quellen die Zellen der Wundgegend. Diese Wirkungen der offenen Wunde können aber kaum für die Auslösung der Blastembildung verantwortlich sein, denn das Baden der Wunde in Kochsalzlösung, womit ein gegenteiliger Effekt, nämlich eine Erhöhung des osmotischen Druckes und eine Entquellung der Zellen erzielt wird, vermag ja gerade bei adulten Anuren, die nicht mehr regenerationsfähig sind, die Regeneration auszulösen. Bei Planarien konnte durch Injektion von Wasser, wodurch die gleichen osmotischen Wirkungen wie durch die Wunde erzielt werden, keine Auslösung der Wanderung der Neoblasten erreicht werden[3]. Diese Ergebnisse sprechen deutlich gegen eine osmotische Wirkungsweise des Auslösefaktors, ungeachtet dessen, daß eine solche Wirkungsweise bei Landtieren, wie Insekten, gar nicht in Frage kommt.

Es ist deshalb naheliegend, an stoffliche Wirkungen zu denken, die von der Wunde ausgehen, an Stoffe, die beim Zerfall, bei der Autolyse der Zellen in der offenen Wunde entstehen. Diese Stoffe wären dann als Wund- oder Nekrohormone zu betrachten, die die Entdifferenzierung der Zellen der Wundgegend bzw. die Zuwanderung von Zellen anregen könnten. Wir werden uns nun fragen, welche bei der Autolyse von Gewebezellen entstehenden Stoffe für die Auslösung der Regenerationsprozesse verantwortlich sein können. Die Versuche, solche Stoffe auf die an der Regeneration beteiligten Gewebe einwirken zu lassen, ohne in diesen selbst eine Autolyse hervorzurufen, scheitern meist an technischen Schwierigkeiten. Es ist jedoch bei der Wanze *Rhodnius* gelungen, Stoffe durch eine feine Öffnung in der Kutikula auf die Hypodermis einwirken zu lassen. Dabei war diese Öffnung so klein, daß sie an sich keine Aktivierung der Hypodermis verursachte[1]. Eine Aktivierung zeigte sich in der Zuwanderung von Hypodermiszellen. Quetschsaft verschiedener Gewebe ergab eine Aktivierung, jedoch nur sehr schwache Wirkung, wenn er vorher gekocht wurde. Proteine zeigten eine relativ schwache Wirkung, dagegen waren verdaute Proteine, wie Wittes Pepton und BDH.-Pepton, sehr aktiv. Unter den Aminosäuren war nur Zystein wirksam. In diesem Falle kann die Wirksamkeit vielleicht den autolysefördernden Sulfhydrylgruppen zugeschrieben werden. Autolysefördernd dürfte auch Trypsin gewirkt haben, das sich in ungekochtem Zustand ebenfalls als aktiv erwies. Für die Aktivierung der Hypodermis, das heißt für die Auslösung der Zuwanderung von Hypodermiszellen, sind also bei *Rhodnius* gewisse Autolyseprodukte, vor allem peptonartige Stoffe, verantwortlich.

Über die Wirkung derartiger Substanzen auf die Regeneration der Amphibien liegen nur sehr wenige Untersuchungen vor. Aminosäuren haben keine beachtenswerte Wirkung, dagegen haben Wittes Pepton und Fibrin einen günstigen Einfluß auf die Blastembildung[2]. Stoffe der gleichen Art könnten also auch bei Wirbeltieren für die Blastembildung verantwortlich sein, doch ist anscheinend der entscheidende Versuch, die Regeneration des adulten Anurenbeins durch derartige Stoffe anzuregen, nicht durchgeführt worden.

Die Einleitung des Regenerationswachstums und ihre Ursachen

Der zweite wichtige Regenerationsprozeß, der auf die Blastembildung folgt, ist die Auslösung des Wachstums durch die Auslösung von Mitosen. Mit Hilfe des Colchicins läßt sich die Mitosebereitschaft der Zellen ermitteln[3]. Im Schwanz der *Xenopus*larve sind normalerweise sehr viele Zellen mitosebereit. Diese Zellen treten aber bei der Regeneration erst 3 bis 5 Tage nach der Amputation in Mitose ein[4]. Um diese Zeit ist also im Gewebe ein Faktor vorhanden, der die Mitosen auszulösen vermag. Dieser Faktor ist vermutlich chemischer Natur. Dafür sprechen die Reamputationsversuche, bei denen infolge stärkerer Mitosetätigkeit die Regeneration rascher verläuft, was kaum anders erklärt werden kann als durch die Annahme einer Ansammlung eines mitosewirksamen Stoffes. Für die chemische Natur dieses Faktors spricht ferner der Umstand, daß seine Wirkungsweise durch einen chemischen Stoff, das Kolchizin, das mitosebereite Zellen zur Mitose anregt[3], nachgeahmt werden kann. Da das Zytoplasma im Regenerationsblastem sehr reich an Ribo-

[1] F. Dubois, Bull. biol. France Belgique *83*, 213 (1949).
[2] V. B. Wigglesworth, J. exper. Biol. *14*, 364 (1937).
[3] F. Dubois, Bull. biol. France Belgique *83*, 213 (1949).

[1] V. B. Wigglesworth, J. exper. Biol. *14*, 364 (1937).
[2] M. Lecamp, C. r. Acad. Sci. Paris *214*, 330 (1942); *224*, 363 (1947).
[3] A. P. Dustin, C. r. Ass. anat. Bâle *33*, 205 (1938). – M. Lüscher, Rev. suisse Zool. *53*, 481 (1946).
[4] M. Lüscher, Rev. suisse Zool. *53*, 683 (1946).

nukleinsäure ist[1], die ja bekanntlich beim Eiweißaufbau eine wichtige Rolle spielt[2], ist es naheliegend, anzunehmen, daß dieser Stoff der verantwortliche Faktor ist, der entweder in den Regenerationszellen selbst gebildet wird oder als Autolyseprodukt von degenerierenden Zellen entsteht. Die Ribonukleinsäure ist ja auch der zellteilungswirksame Faktor des Embryonalextraktes[3], durch den auch die Regeneration beschleunigt werden kann. Die wachstums- und regenerationshemmende Wirkung der Röntgenstrahlen scheint auf einer Hemmung des Nukleinsäurestoffwechsels zu beruhen[4], und die antimitotische Wirkung des Östradiols kann durch Zusatz von Ribonukleinsäure weitgehend aufgehoben werden[5]. Alle diese Ergebnisse sprechen für die große Bedeutung, die der Ribonukleinsäure im Zellteilungsgeschehen zukommt. Sicher spielt sie deshalb eine wichtige Rolle beim Regenerationswachstum. Ob nun die Ribonukleinsäure selbst die vermutete Wirkung der Auslösung der Wachstumsphase besitzt, ist noch nicht sichergestellt. Als Auslösefaktoren könnten auch andere Stoffe in Frage kommen, vielleicht solche, die die Synthese von Ribonukleinsäure begünstigen.

Wir haben gesehen, daß beim adulten Molch das Nervensystem eine trophische Wirkung auf die Auslösung des Regenerationswachstums hat, das ohne Vorhandensein von Nerven nicht eintritt, daß aber transplantierte, nervenlose Extremitäten regenerieren können. In der transplantierten Extremität geht eine sehr weitgehende Entdifferenzierung vor sich. Dies läßt vermuten, daß bei der Entdifferenzierung ein wachstumsanregender Stoff produziert wird, vielleicht Ribonukleinsäure. Die Versuche scheinen aber auch darauf hinzuweisen, daß die Wirkung des Nervensystems stofflich ist, das heißt, daß die Aktionssubstanzen der Nervenfasern (von denen ja ein quantitatives Minimum benötigt wird) entweder selbst als wachstumsauslösende Faktoren wirken oder daß sie die Synthese eines solchen begünstigen.

Schlußbemerkungen

Wenn auch die Ursachen der tierischen Regeneration noch keineswegs vollständig erkannt sind, so besitzen wir heute doch Anhaltspunkte, die uns eine Vorstellung der kausalen Zusammenhänge geben können. Wir sind zum Schluß gekommen, daß es vor allem chemische Faktoren sind, die für die Auslösung und Weiterführung der Regeneration verantwortlich sein müssen, und zwar sind mindestens zwei verschiedene Faktoren maßgebend, von denen der eine die Auslösung der Blastembildung, der andere das Einsetzen des Wachstums bewirkt. Über die Natur dieser chemischen Auslösefaktoren können wir trotz manchen Anhaltspunkten erst Vermutungen aussprechen.

Nachdem wir die Bedeutung der offenen Wunde und der Autolyseprodukte kennen und Methoden gefunden haben, die es gestatten, bei regenerationsunfähigen Anurenbeinen eine Regeneration hervorzurufen, können wir auch verstehen, weshalb nicht alle Tiere regenerationsfähig sind. Es ist möglich, daß die Regenerationsfähigkeit prinzipiell allen Tieren zukommt, daß die Regeneration aber vielfach durch andere Mechanismen verunmöglicht wird, wie bei adulten Anuren durch die Eigenschaften der Epidermis, die für einen allzu raschen Wundverschluß verantwortlich ist.

Man darf deshalb mit einem gewissen Recht der Hoffnung Ausdruck geben, daß es einmal gelingen möge, auch bei höheren Wirbeltieren Regenerationserscheinungen zu provozieren. Dies wird aber est dann möglich sein, wenn die biologisch-chemische Forschung einmal die verantwortlichen Faktoren der Regeneration, über die wir hier nur Vermutungen ausgesprochen haben, genau erkannt und ihren Wirkungsmechanismus analysiert haben wird. Ist dies einmal erreicht, so wird die Regenerationsforschung nicht mehr wie heute vorwiegend Mittel zum Zweck der Erforschung der Wachstums- und Differenzierungsprobleme sein, sondern als Selbstzweck praktische Bedeutung erlangen.

Summary

The specific regeneration processes, the formation of a blastema and the regenerative growth may be influenced experimentally by different methods. After a review of the experimental data the conclusion is drawn that both processes depend on chemical substances which are produced in autolysed cells of the wound. It seems that the formation of the regeneration blastema is brought about by protein derivatives such as polypeptids, while growth is initiated by ribonucleic acid or by substances which stimulate the synthesis of ribonucleic acid.

[1] H. Clément-Noël, Ann. Soc. Roy. Zool. Belgique *75*, 25 (1944).
[2] T. Caspersson, Sympos. Soc. exper. Biol. *1*, 127 (1947).
[3] A. Fischer, *The Biology of Tissue Cells* (Cambridge, New York and Kopenhagen 1946).
[4] V. V. Brunst, Quart. Rev. Biol. *25*, 1 (1950).
[5] G. Töndury, mitgeteilt in einem Vortrag vor der Naturforschenden Gesellschaft Basel, 1950.

Congressus

International Conference on Beta and Gamma Radioactivity

Amsterdam 1st – 6th September 1952

The Netherlands Physical Society, under the auspices of the International Union of Pure and Applied Physics and supported by the UNESCO, organizes this International Conference.

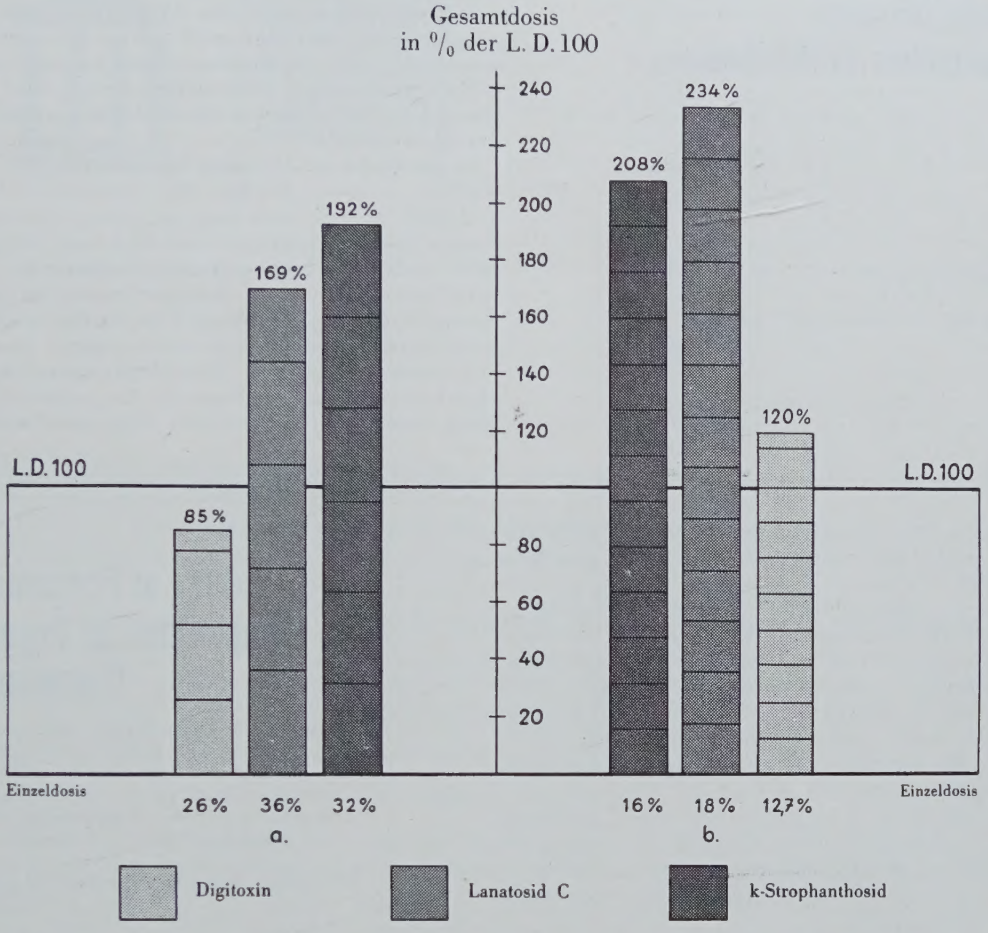
Introductory lectures will be held on the following subjects: beta disintegration, allowed and forbidden transitions, k-capture; gamma transitions and internal conversion; systematics of beta and gamma decay and shell-model; angular and polarization-correlations; critical discussion of instruments for beta and gamma spectroscopy; energy calibration; measurements on nuclear recoil and detection of the neutrino.

Speakers amongst others will be: Prof. S. R. de Groot (Utrecht); Prof. M. Deutsch (M.I.T.); Prof. O. Kofoed-Hansen (Copenhagen); Prof. K. Siegbahn (Stockholm); Prof. V. F. Weisskopf (M.I.T.); R. Bouchez (Paris); J. H. D. Jensen (Heidelberg).

Short communications of about 15 minutes may be made at the main sessions and at the sectional meetings.

Secretary: Prof. J. de Boer, Bunsenstraat 98, Amsterdam-O (The Netherlands).

Mit den pharmakologischen Untersuchungen in den Laboratorien der Sandoz A.G. wurde ein wesentlicher Beitrag zur Differenzierung der verschiedenen herzwirksamen Glycoside geleistet.



Relative toxische Kumulation herzwirksamer Glycoside bei chronischer Verabreichung am Ganztier. Es wird diejenige Gesamtmenge eines herzwirksamen Glycosides, welche zum Tod des Tieres führt, verglichen mit der einmaligen letalen Infusionsdosis nach *Hatcher*

a) bei Verabreichung von grösseren Einzeldosen,
b) bei Verabreichung von kleineren Einzeldosen.

Die Versuche demonstrieren die geringe relative toxische Kumulation von Lanatosid C und k-Strophanthosid.

Suter E., Rothlin E. und Bircher R.: „Glykosidwirkung auf Elektrokardiogramm und Myokard". Helv. Physiol. Acta 7, 1, 1949

SANDOZ A.G. - BASEL

SANDOZ

DR. H. GYSEL

Leiter der mikroanalytischen Laboratorien der Ciba AG., Basel

Prozenttabellen organischer Verbindungen

C–H C–H–O C–H–N C–H–O–N
C–H–S C–H–O–S C–H–N–S C–H–O–N–S

Erscheint am 15. Februar 1952

662 Seiten. Kunstleder. sFr. 125.–

Jeder Chemiker, sei er nun Forscher, Analytiker, Synthetiker oder Betriebschemiker, weiß, wie langweilig, mühsam und zeitraubend es ist, wenn er von allen seinen vermutlichen oder theoretisch möglichen organisch-chemischen Verbindungen, seien es nun Naturprodukte oder Abbauprodukte, synthetische Produkte oder Zwischenprodukte, die prozentmäßige Zusammensetzung berechnen muß, um sie dann erst mit seinen analytischen Resultaten vergleichen zu können.

Mit den vorgesehenen «Prozenttabellen organischer Verbindungen» sind nun die theoretischen Gehaltsberechnungen überflüssig geworden.

Da die Werte auf die zweite Dezimale auf- bzw. abgerundet wurden, beträgt die Genauigkeit noch $\pm$ 0,005%. Zudem wurde auch den enorm erweiterten Forschungs- und Arbeitsgebieten Rechnung getragen, indem auch recht hochmolekulare Verbindungen, das heißt Verbindungen bis C_{50}, berechnet wurden. Es ist anzunehmen, daß das vorliegende Tabellenwerk während der nächsten Jahrzehnte den Anforderungen genügen wird, umfaßt es doch etwa 70000 der häufigsten organischen Verbindungen. Dem Buche ist eine größere Anzahl häufig gebrauchter Hilfstabellen beigegeben worden.

Every organic chemist and every analyst knows how much of his time is spent performing the long, tedious logarithmic calculations necessary to find the percentage atomic composition of the many compounds in which he is interested. He will, therefore, certainly welcome the publication of this book since it contains comprehensive tables which will permit him to find easily the percentage of carbon, hydrogen, oxygen, nitrogen, sulfur, and of certain groups in some 70,000 of the most common organic compounds having up to fifty carbon atoms.

In making up these tables the latest published atomic weights (1950) have been used. The values were calculated to the third decimal place and are given in the table to the nearest second decimal so that they are exact to $\pm$ 0.005%.

Tables of Percentage Composition of Organic Compounds

C-H C-H-O C-H-N C-H-O-N
C-H-S C-H-O-S C-H-N-S C-H-O-N-S

Publication date: 15 February 1952

662 pages, net price Swiss francs 125.–

Tables des compositions centésimales des combinaisons organiques

C-H C-H-O C-H-N C-H-O-N C-H-S C-H-O-S C-H-N-S C-H-O-N-S

Vient de paraître: 15 février 1952

662 pages. Relié cuir artificiel. Prix fr. s. 125.–

Tout chimiste, qu'il s'occupe de recherche, d'analyse, de synthèse ou d'exploitation, sait, combien il est fastidieux de calculer la composition centésimale de toutes les combinaisons probables ou possibles auxquelles il peut avoir affaire, qu'il s'agisse de corps naturels, de produits de dégradation ou de synthèse, ou de matières intermédiaires, pour pouvoir la comparer à ses résultats d'analyse.

Les «Tables des compositions centésimales des combinaisons organiques» que nous nous proposons de publier, rendent tous ces calculs superflus.

Bestellungen an Ihren Buchhändler – Orders through your bookseller – Commandes à votre libraire

VERLAG BIRKHÄUSER BASEL